



Annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1980

Vol. 30 - N° 2

inra

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

30 (1) 113-227 (1980)

AAP30.2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, 75007 PARIS, Tél. : 551-41-09.

Directeur général : J. POLY

Annales agronomiques.

- L. GACHON, Chef du Département d'Agronomie, 63100 Clermont-Ferrand.
- P. CHARTIER, Chef du Département de Bioclimatologie, C.N.R.A., 78000 Versailles.
- J. MAMY, Chef du Département de Science du Sol, C.N.R.A., 78000 Versailles.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

- M. RIVES, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris.

Annales de Phytopathologie.

- A. COLÉNO, Chef du Département de Pathologie végétale, I.N.A. Paris Cedex 752 1.

Annales de Zootechnie.

- A. RÉRAT, Chef du Département de Nutrition, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.

Annales de Technologie agricole.

- P. DUPUY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux, 21034 Dijon Cedex.
- A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés C.E.R.D.I.A., Le Noyer-Lambert, 91300 Massy.
- B. L. DUMONT, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Viande, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.
- A. BOURDET, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, I.N.R.A., 16, rue N.-Fortin, 75013 Paris.

Annales des Sciences forestières.

- P. BOUVAREL, Inspecteur général de la Recherche agronomique, Chef du Département de Recherches forestières, C.N.R.F., 54280 Seichamps.
- J. PARDE, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C.N.R.F., 54280 Seichamps.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

- P. MÉRAT, Directeur de la Station de Génétique factorielle, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.
- F. GROSCLAUDE, Chef du Département de Génétique animale, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I.N.R.A.-Deutscher-Imkerbund).

- J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abaille et les Insectes sociaux, 91440 Bures-sur-Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

- J. ASSO, Station de Virologie, Immunologie, Route de Thiverval 78850 Thiverval-Grignon.

Reproduction, Nutrition, Développement. Administration et secrétariat de la Rédaction à l'adresse suivante : C.N.R.Z., 78350 JOUY-EN-JOSAS.

- L. GUÉGUEN.
- G. PÉTRISSANT.
- Ch. THIBAUT.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION

Service des Publications de l'I.N.R.A., route de Saint-Cyr, 78000 VERSAILLES, Tél. : (3) 950-75-22



Annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1980

Vol. 30 - N° 2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Inheritance of sex in *Vitis*

A. J. ANTCLIFF

with the technical collaboration of Doris M. CORBOULD

CSIRO Division of Horticultural Research,
Merbein, Victoria 3505, Australia

Summary

Observations on the sex of about 15 000 seedlings raised in a grape breeding programme at Merbein were consistent with the determination of sex in *Vitis* by a single set of three alleles. Deviations from simple Mendelian ratios were found only when observations were made on incomplete populations, such as those in which not all seedlings had reached the reproductive stage or a high proportion had been lost before reaching this stage. From crosses involving one homozygous hermaphrodite parent it appeared that under the conditions and with the techniques used at Merbein about 1-2 p. 100 of the seeds may arise from pollination with extraneous pollen.

Introduction

The two principal hypotheses for the inheritance of sex in the genus *Vitis* (OBERLE, 1938; LEVADOUX, 1946) have been clearly set out and compared by DOAZAN and RIVES (1967). They give compelling reasons for preferring the three alleles at a single locus proposed by LEVADOUX (male completely dominant to hermaphrodite completely dominant to female) to the two pairs of alleles proposed by OBERLE (one dominant for ovule suppression and the other recessive for pollen suppression) which must be supposed to be so closely linked that crossing over never occurs in order to explain the non-occurrence of neuter and latent neuter genotypes. Such close linkage suggests a single locus and with the missing genotypes omitted the two hypotheses become equivalent.

NEGI and OLMO (1971) studied clones of *V. vinifera* ssp. *sylvestris* showing a natural conversion from male to partially hermaphrodite. They suggested that the expression of male and female phenotypes is controlled by a single pair of alleles while the expression of hermaphrodite is controlled by modifier gene(s)

which convert male to hermaphrodite. However the hermaphrodite condition in their material was always incompletely expressed whereas there was a clear distinction between the male and hermaphrodite phenotypes considered by the other authors.

LOOMIS *et al.* (1954), working with *V.* subgenus *Muscadinia* descended from selections in which a completely hermaphrodite phenotype had arisen apparently as the result of a single mutation, found two patterns of inheritance. Their group A showed behaviour consistent with the hypothesis of LEVADOUX (1946) but their group B when selfed gave a 9; 3; 4 ratio suggesting modified two-factor inheritance. However they found a ratio of 3 female to 4 male phenotypes rather than the 3 male to 4 female which might have been expected from the scheme suggested by NEGI and OLMO (1971).

Data obtained in the grape breeding programme at Merbein support the idea of a single set of three alleles as proposed by LEVADOUX (1946) and indicate ways in which apparent deviations from the expected simple Mendelian ratios can arise.

Materials and Methods

The vines used as parents were, apart from "Sangiovese" and "Mammolo", either field vines in the cultivar collections at Merbein or potted vines in an insect-proofed quarantine glasshouse. The "Sangiovese" and "Mammolo" vines were in a vineyard at Mudgee, New South Wales. Most parents were cultivars of *Vitis vinifera* but a few were complex hybrids involving up to 8 North American species of *Vitis* in addition to *V. vinifera*. Two male parents were simple hybrids of North American species and 2 female parents were pure North American species.

The crosses to be described were made in the course of a breeding programme designed to produce cultivars adapted to Australian conditions (ANTCLIFF, 1978) and parents were chosen accordingly. In many cases the genotype of the parents in respect of sex was unknown until it became apparent from the ratios found in the progeny.

Breeding techniques for grapes have been reviewed by EINSET and PRATT (1975). At Merbein we usually collected pollen on a glass plate from attached inflorescences, emasculated with pointed forceps and pollinated with a camel hair brush. Brown paper bags folded over and secured with paper clips were used to exclude unwanted pollen. The Merbein station is on the outskirts of a fairly compact irrigation region with about 14 500 ha of "Sultanina" and much smaller areas of other grape cultivars so the opportunity for chance pollination by stray "Sultanina" pollen is fairly high. Seedlings were separated singly after germination into plastic tubes or bags, thus the possibility of misplacement could not be entirely ruled out.

Very few seedlings were discarded before planting in the field, so apart from losses in the glasshouse practically the whole of the germinated population was retained. Losses after planting were usually few. Many seedlings produced inflorescences in their third season after planting and most seedlings were retained until at least their fifth season. Sex was ascertained in the field at flowering and less than 1 p. 100 of the seedlings proved difficult to classify.

Although not in accord with current genetic usage, the symbols M, H and F

suggested by LEVADOUX (1946) for the three alleles controlling sex expression will be used here for convenience. The following genotypes are possible:

MM	homozygous male; can arise only after sex conversion in a heterozygous male and is not likely to be found in Australia.
MH	heterozygous male, phenotypically indistinguishable.
MF	
HH	homozygous hermaphrodite
HF	heterozygous hermaphrodite
FF	female

Results

FF × HF crosses. Populations in which most seedlings had reached the flowering stage by the time observations were made generally showed no significant deviations from the expected 1:1 ratio of sex phenotypes despite wide differences in p. 100 germination (table 1). Of the parents listed "Villard blanc" is a complex hybrid, "Ramsey" is *V. champini*, "MG 56-100" is *V. berlandieri*, and all others are *V. vinifera*.

TABLE I

Sex phenotype and percentage germination of progeny from FF × HF crosses

Female parent	Hermaphrodite parent	Percentage germination	Sex ratio		χ^2
			♂	♀	
"Madeleine Angevine"	"Sultanina"	12	226	252	1,41
"Bicane"	"Sultanina"	56	198	185	0,44
"Bicane"	3 muscat cultivars ⁽¹⁾	60	112	127	0,94
"Chaouch"	"Sultanina"	7	32	30	0,06
"Ramsey"	"Sultanina"	50	33	43	1,32
"Ramsey"	"Villard blanc"	73	35	30	0,38
"MG 56-100"	"Sultanina"	64	56	56	0,00
"Bellino"	"Cabernet Sauvignon ⁽²⁾ "	40	61	40	4,36 (*)
"Bellino"	"Cabernet Sauvignon ⁽³⁾ "	49	163	144	1,18
"Bellino"	Other cultivars ⁽⁴⁾	36	57	63	0,30
"Crujidera"	"Cabernet Sauvignon ⁽²⁾ "	56	47	24	7,45 (**)
"Crujidera"	"Cabernet Sauvignon ⁽⁵⁾ "	n.a.	58	50	0,59
"Crujidera"	Other cultivars ⁽⁶⁾	n.a.	50	46	0,17
			1 128	1 090	0,651

⁽¹⁾ "Muscat of Alexandria", "Muscat à petits grains rouge", "Aleatico".

⁽²⁾ Cross made in 1966.

⁽³⁾ Cross made in 1971.

⁽⁴⁾ "Bastardo" and "Muscat à petits grains rouge", crosses made in 1966.

⁽⁵⁾ Crosses made in 1967 and 1973.

⁽⁶⁾ "Barbera", "Negro Amaro", "Sultanina", "Souzão".

n.a. not available.

(*), (**) Significant at the 5 p. 100 and 1 p. 100 levels respectively.

In one case when development to flowering was slower early observations showed a highly significant deviation from expectation. Fruit was collected from two vines of the female cultivar "Ohanez" growing in the middle of a field of "Sultanina". The seed gave 51 p. 100 germination and a population of 1 069 seedlings was established after planting in 1965. The sex ratios, given in Table 2,

TABLE 2

*Effect of rate of development on the sex ratios of progeny
from an FF $\times$ HF cross, year of planting 1965*

Stage of development	Sex ratio		χ^2
	♂	♀	
Flowering by 1967	362	263	15.68 (***)
Not flowering by 1967 but } flowering by 1969 }	101	135	4.90 (*)
Total flowering by 1969	463	398	4.91 (*)

(*), (***) Significant at the 5 p. 100 and 0.1 p. 100 levels respectively.

show a deficiency of females among the first seedlings to reach the flowering stage, a deficiency of hermaphrodites among those reaching flowering over the next two seasons, with still some deficiency of females among the four-fifths of the population which had reached flowering by this time. Only 5 vines produced coloured fruit (both parents are white, which is recessive), nearly all were obviously progeny of "Sultanina" and it is most unlikely that any were the result of pollination by homozygous hermaphrodite cultivars. Both "Ohanez" and "Sultanina" have a low proportion of fruitful buds and most of the unclassified seedlings were extremely large and vigorous vines showing no sign of inflorescence development (such vines will be referred to as barren). The planting was removed at the end of the 1969-70 season.

Seedlings from controlled crosses of "Ohanez" and three clones of "Sultanina" were planted in 1966, germination in this case being 66 p. 100. By 1970 flowering had been recorded on 262 out of a total of 369 vines, 146 hermaphrodite and 116 female. The proportion is similar to that in the first planting but, because of the smaller numbers, χ^2 at 3.44 does not reach significance at the 5 p. 100 level. Most of the remaining vines were again barren.

HF $\times$ HF crosses. Data from crosses of heterozygous hermaphrodite cultivars are shown in table 3. The first 17 parents listed, "Syrah" to "Tinta Amarella", are black winegrape cultivars while "Peverella" to "Verdelho" are used for white wine. The latter group were crossed with only "Sultanina" and "Askari". The "white muscat" is an unidentified cultivar similar to but not identical with "Muscat Fleur d'Oranger". Apart from the three black winegrape cultivars so used the pollen parents are seedless cultivars. The two shown by number are

TABLE 3

Sex phenotype of progeny from HF × HF crosses

Grouped by seed parent	Sex ratio		χ^2	Grouped by pollen parent	Sex ratio		χ^2
	♂	♀			♂	♀	
"Syrah"	672	230	0,12	"Sultanina" . . .	2 912	969	0,00
"Sumoll"	602	181	1,48	"Sultanina rose" .	583	186	0,27
"Mataro"	373	140	1,44	"Black Monukka" .	484	191	3,91 (*)
"Alvarelhão" . . .	224	74	0,00	"Beauty Seedless" .	73	21	0,35
"Merlot"	208	76	0,47	"MH-29 63" . . .	58	17	0,22
"Grenache"	185	75	2,05	"MH 28-113" . . .	29	8	0,23
"Cabernet Sauvi- gnon"	177	35	8,15(**)	"Askari"	25	6	0,53
"Souzão"	140	35	2,33	"Cabernet Sauvi- gnon"	291	107	0,75
"Touriga"	121	30	1,99	"Cabernet Franc" .	267	72	2,56
"Bastardo"	117	40	0,02	"Grenache"	26	4	2,18
"Cabernet Franc" .	94	36	0,50		4 748	1 581	0,001
"Kobel 1028" . . .	86	22	1,23				
"Gamay Préaux" .	75	26	0,03				
"Mavronemeas" . .	72	29	0,74				
"Pinot noir"	71	21	0,23				
"Zinfandel"	54	19	0,04				
"Tinta Amarella" .	15	3	0,67				
"Peverella"	268	73	2,35				
"Crouchen"	275	79	1,36				
"Fernão Pires" . .	119	57	5,12 (*)				
"Villard blanc" . .	113	51	3,25				
"Grenache gris" . .	111	32	0,52				
"Chenin blanc" . .	104	46	2,57				
"Macabeo"	89	41	2,96				
"Biancone"	60	15	1,00				
"White Muscat" . .	56	17	0,11				
"Farana"	50	16	0,02				
"Aligoté"	39	7	2,35				
"Semillon"	34	7	1,37				
"Muscat of Alexan- dria"	29	17	3,51				
"Sylvaner"	27	11	0,32				
"Muscadelle" . . .	26	10	0,15				
"Ondenc"	24	12	1,33				
"Traminer"	21	8	0,10				
"Verdelho"	17	10	2,09				
	4 748	1 581	0,001				

(*), (***) Significant at the 5 p. 100 and 1 p. 100 levels respectively.

selections made at Merbein, having the parentage "Farana" × "Sultanina" (MH 29-63) and "Macabeo" × "Sultanina" (MH 28-113). All cultivars except "Villard blanc" are *V. vinifera*. Over all the sex ratio is very close to expectation.

A comparison of the distribution of χ^2 for the populations shown in table 1 and in table 3 grouped by seed parent with the theoretical distribution is shown

TABLE 4

Comparison of the distribution of χ^2 for the populations shown in Table 1 and Table 3 with the theoretical distribution

Values of χ^2	Expected occurrence	Table 1 ($n = 13$)		Table 3 ($n = 35$)	
		Calc.	Obs.	Calc.	Obs.
0-0,148	0,30	3,9	2	10,5	8
0,148-0,455	0,20	2,6	4	7,0	3
0,455-1,074	0,20	2,6	2	7,0	6
1,074-1,642	0,10	1,3	3	3,5	6
1,642-2,706	0,10	1,3	0	3,5	7
2,706-3,841	0,05	0,65	0	1,75	3
3,841-5,412	0,03	0,39	1	1,05	1
> 5,412	0,02	0,26	1	0,70	1
χ^2 (value required for 5 p. 100 level 14,07)		9,05		9,33	

in table 4. In neither case is there a significant departure from expectation and the occasional significant values of χ^2 can be disregarded.

Data were collected at two stages for 1 044 seedlings planted in 1966 from the crosses of "Syrah", "Grenache", "Sumoll" and "Alvarelhão" with "Sultanina", "Sultanina rose" and "Black Monukka". The sex ratios, given in table 5, show

TABLE 5

Effect of rate of development on the sex ratios of progeny from HF $\times$ HF crosses, year of planting 1966

Stage of development	Sex ratio		χ^2
	♂	♀	
Flowering by 1968	456	119	5,68 (*)
Not flowering by 1968 but } . . .	226	122	18,77 (***)
flowering by 1970 }			
Total flowering by 1970	682	241	0,61

(*), (***) Significant at the 5 p. 100 and 0,1 p. 100 levels respectively.

a deficiency of females among the first seedlings to reach the stage of flowering with a corresponding deficiency of hermaphrodites among the later developing seedlings leading to a final ratio very close to expectation. About 15 p. 100 of the vines not classified had a few flowers which had set when examined in 1970

but most were weak vines too small to produce inflorescences. They may have suffered from shading by adjacent vines or they may have been genotypically weaker through arising from unintended self-pollination.

In a series of crosses with "Danugue", a cultivar which resembles "Ohanez" in having a low fruitfulness and producing barren progeny, the populations could be divided in the fifth season into two groups according to the proportion of barren (not counting weak) seedlings produced. One, made up of populations with at least 50 p. 100 more barren than female seedlings, was derived from the pollen parents "Cabernet Sauvignon" and "Sultanina", and the other, of populations with the barren always less than 75 p. 100 of the female, from "Traminer", "Zinfandel", "Aleatico", "Tempranillo", "Syrah", "Merlot", "Souzão" and "Barbera". The counts for the groups were:-

group 1 . . . 35 barren 118 ♀ 20 ♀ χ^2 8,13**
group 2 . . . 37 barren 508 ♀ 148 ♀ χ^2 3,85

The pollen parents within each group are not closely related.

Losses after germination were usually minor but one case of severe loss provided an opportunity to look for differential survival. The cross "Montils" × "Sultanina" was made first in 1966 and again on a much larger scale in 1970. Germination was similar on both occasions but on the second occasion nearly half of the seedlings died at about the 3- to 6-leaf stage due to collapse of the hypocotyl and roots. Data from these two crosses are shown in table 6. The lower

TABLE 6

Data from two populations of "Montils" × "Sultanina"

Year of Cross	Seeds Sown	Seedlings separated	Seedlings planted	♀	♀	χ^2
1966	172	79	79	52	18	0,02
1970	3 379	1 454	744	335	79	7,73 (**)

(**) Significant at the 1 p. 100 level.

proportion of seedlings sexed from the 1970 cross represents a further serious loss shortly after planting in the field.

HH cultivars. Homozygous hermaphrodite cultivars are recognizable by the uniformly hermaphrodite progeny obtained when they are crossed with hermaphrodite or female cultivars. Cultivars which were found to be homozygous hermaphrodite in the programme at Merbein are listed in table 7. Details of their progeny are shown separately for when they were used as seed parent and when they were used as pollen parent. In the case of "Sangiovese" and "Mammolo" and of some populations from the other cultivars when used as seed parent open pollinated seed was collected. The last three listed are seedlings raised at Merbein and have the parentage "Macabeo" × "Sultanina", "Danugue" open pollinated

TABLE 7

Data from populations with one parent a homozygous hermaphrodite cultivar

Homozygous parent	Used as seed parent		Used as pollen parent	
	♂	♀	♂	♀
"Riesling"	207	—	931	2
"Bombino nero"	81	—	59	1
"Sangiovese"	177	—		
"Mamimolo"	160	1,1 ♂		
"Uva di Troia"	121	—		
"Mavroromeico"	89	—		
"Chardonnay"	29	—	47	1
"Muscat Hamburg" . . .	1	—	260	3
"S. 14664"	69	—	88	1
"J.S. 23-416"	53	—	74	—
"Illinois 271-1"	126	—	141	3
"Lady Patricia"	1	—	38	1
"MH 28-115"	seedless		143	1
"MH 39-11"			168	—
"MG 10-95"			140	—
TOTAL	1 114	1	2 089	13
Used on FF seed parent			835	7
Used on HF seed parent			1 254	6

and "Cabernet Sauvignon" $\times$ "Black Monukka" respectively. "Lady Patricia" and the other three numbered parents are complex hybrids in which *V. rupestris* and *V. lincecumii* are the major components other than *V. vinifera*.

Crosses with males. A few seedlings were raised from crosses between several heterozygous hermaphrodite cultivars and male selections of unknown genotype using pollen sent by Dr H.C. BARRETT from the University of Illinois. The pollen was stored in sealed plastic sachets in a refrigerator at 2-5 °C until flowering occurred at Merbein. The ratio to be expected in the sex of the offspring would depend on whether the genotype of the male parent was MH or MF. The count for all seedlings was 33 ♂, 30 ♀ and 10 ♀ with χ^2 of 11.63 for the deviations from the ratio of 2 ♂, 1 ♀, 1 ♀ expected if all of the male parents had been MF, significant at the 1 p. 100 level. Two of the male parents were hybrids of American species, *V. rupestris* $\times$ *V. cinerea* and *V. berlandieri* $\times$ *V. rupestris*. These species are entirely dioecious (BAILEY, 1934, p. 170), comprising MF and FF individuals, so the parents concerned would have had the constitution MF. Of their seedlings 15 were ♂, 13 ♀ and 9 ♂, χ^2 being 2.19 and not significant. The other two male parents came from crosses of the complex interspecific hybrid "Villard blanc" (HF) $\times$ *V. cinerea* (MF) and could therefore have had the constitution MH, in which case equal numbers of ♂ and ♀ offspring would be expected. Of their seedlings 18 were ♂, 17 ♀ and only 1 ♀, presumably from extraneous pollen.

Discussion

The results presented in this paper are consistent with the determination of sex in the genus *Vitis* by a single set of three alleles. Deviations from simple Mendelian ratios occurred, but only when incomplete populations were observed. There was no relation between germination and the degree of deviation and some populations from a very low p. 100 germination did not deviate significantly from the expected ratio of hermaphrodite to female. However there was a clear tendency for hermaphrodite seedlings to reach the reproductive stage earlier than female seedlings and observations made in the first season of flowering frequently showed a deficiency in the proportion of females. A similar deficiency occurred when there was a heavy loss of seedlings before they reached the reproductive stage. Where seedling losses were avoided and the populations maintained long enough to allow most vines to flower, the observed ratios approached those expected very closely. It does not seem necessary to postulate sex linked lethal and semi-lethal factors or genetic modifiers such as those suggested by AVRAMOV *et al.* (1967).

All parents used belonged to the subgenus *Euvitis*. No male seedlings occurred in the progeny of any controlled crosses of two hermaphrodite or female by hermaphrodite parents. Thus there was no evidence of modified two-factor inheritance such as that found by LOOMIS *et al.* (1954) in the subgenus *Muscadinia*. No partial hermaphrodites such as those described by NEGI and OLMO (1971) were found.

The data for the homozygous hermaphrodite cultivars give some indication of the extent of extraneous pollination. When one of these cultivars is used as seed parent only the dominant gamete from a male vine will lead to other than hermaphrodite offspring. Male cultivars are used only as rootstocks or ornamental vines. Because rootstocks are little used in Australia male vines are not common in viticultural areas but the one male seedling in the "Mammolo" population (table 5) presumably arose in this way. The five male vines among 4 660 hermaphrodite in a "Riesling" progeny (BREIDER and SCHEU, 1937) can be accounted for in the same way and the very small number of males would not be easily explained by genetic modifiers. This then leaves only one female seedling out of 1 116 at Merbein to be accounted for by misplacement or similar error. On the other hand, when the homozygous hermaphrodite cultivar is used as pollen parent, extraneous pollen from heterozygous cultivars will produce a number of female seedlings. The probability is that these will be accompanied by an equal number of hermaphrodite seedlings from the same extraneous pollen with a female seed parent and three times as many with a hermaphrodite seed parent. Thus there may have been 14 (2×7) out of 842 plus 24 (4×6) out of 1 260 making a total of 38 seedlings out of 2 102, or 1.8 p. 100 from extraneous pollen in the populations listed at the right in table 5. Reasonable precautions were taken to exclude unwanted pollen so faults of this order might be expected in a practical breeding programme and should be taken into account when testing genetic hypotheses.

A minor point is that the "Muscat Hamburg" used at Merbein is the usual homozygous hermaphrodite type, and not heterozygous like that of AVRAMOV *et al.* (1967).

Résumé

Le contrôle génétique du sexe dans le genre Vitis

Les observations sur le sexe d'un effectif d'environ 15 000 semis issus d'un programme d'hybridations à Merbein, sont en accord avec l'hypothèse d'une détermination génétique du sexe dans le genre *Vitis* par une seule série de trois allèles. Des déviations aux disjonctions Mendéliennes n'ont été observées que chez des descendance incomplètes, soit que tous les individus n'ont pas achevé leur phase juvénile, soit qu'ils ont été perdus avant de fleurir.

Dans ces conditions expérimentales, 1 à 2 p. 100 des embryons hybrides peut provenir de fécondations par de l'allopollen, lorsque les croisements mettent en jeu un parent homozygote hermaphrodite.

References

- ANTCLIFF A. J., 1978. Breeding wine grapes for hot climates. In *Génétique et amélioration de la vigne*, I.N.R.A. Paris, 341-344.
- AVRAMOV L., JELENKOVIC G., JOVANOVIĆ M., and RODIC Z., 1967. Inheritance of flower types in some grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, **6**, 129-135.
- BAILEY L. H., 1934. The species of grapes peculiar to North America. *Gentes Herbarum*, **3**, 151-244.
- BREIDER H. and SCHEU H., 1937. Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts innerhalb der Gattung *Vitis*. *Gartenbauwissenschaft*, **11**, 627-674.
- DOAZAN J.-P. and RIVES M., 1967. Sur le déterminisme génétique de sexe dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, 105-111.
- EINSET J. and PRATT C., 1975. Grapes. In *Advances in fruit breeding*, Ed. J. JANICK and J.N. MOORE, West Lafayette Ind. : Purdue University Press, 130-153.
- LEVADOUX L., 1946. Étude de la fleur et de la sexualité chez la vigne. *Ann. Éc. nation. sup. agron. Montpellier*, **27**, 1-89.
- LOOMIS N. H., WILLIAMS C. F., and MURPHY M. M., 1954. Inheritance of flower types in muscadine grapes. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **64**, 279-283.
- NEGI S. S. and OLMO H. P., 1971. Conversion and determination of sex in *Vitis vinifera* L. (*sylvestris*). *Vitis*, **9**, 265-279.
- OBERLE G. D., 1938. A genetic study of variations in floral morphology and function in cultivated forms of *Vitis*. *Tech. Bull. New York St. Agric. Exper. Stn.*, **250**, 1-63.
-

Cytoplasmic male sterility in *Vicia faba* L.

V. — Intermediate phenotypes

H. THIELLEMENT

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.,
Université de Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex*

Summary

In this study we observed the F_{12} generation, the fourth successive generation in greenhouse conditions, of a cytoplasmic male-sterile line. Between the plants classified as I (for Intermediate pollen phenotype) variability is large. Among them, the plants showing flowers with black stamens and no pollen, and little pollen on other stamens, "SnI" plants, gave a progeny globally less fertile than I plants not showing black stamen, "classical I" plants. In the progeny of SnI plants, 6 plants were found to be fully male sterile with every stamen black and no pollen on all the observed flowers, phenotypically different from the original S (male sterile) plants.

Grouping the progenies according to the phenotype of the ancestor BC_0 plant, I or SVI (sterile towards intermediate) a third generation effect was visible, analogous to the grand-mother effect previously reported.

The different proportions of plant phenotypes are compared in I progenies in F_{10} , F_{11} and F_{12} . A slight evolution is noted towards fertility in F_{12} progenies from classical I plants.

These results are discussed according to the two plasmons hypothesis and can be interpreted by it at a global, population level. However the hypothesis does not fit for individual progenies and this leads to the question of its validity.

Introduction

Cytoplasmic male-sterility in faba beans has been extensively studied in England (BOND *et al.*, 1966 *a* & *b*) and in France (BERTHELEM, 1970; PICARD, 1972; BERTHELEM & LE GUEN, 1974; THIELLEMENT, 1977 *a*, *b* & *c*, 1978, 1979 *a* & *b*; DUC, 1978) since it would enable the production of first generation hybrid varieties which would enhance and regularize yield of this protein crop. The lack of stability of the pollen sterility, which is due to an interaction between nuclear and cytoplasmic determinants constitutes the major agronomic problem.

Earlier we reviewed (THIELLEMENT, 1977 *a*) the three peculiarities associated with the "447" cytoplasm discovered by BOND in 1957 *i.e.* instability, somatic reversion and permanent restoration. The different hypotheses were also discussed.

Previous experiments lead to the following observations: (1) in a genetically homogeneous male sterile line (BC_9) considerable phenotypic heterogeneity is observed between and within plants, this is due partly to somatic reversion causing 46 p. 100 of the plants to show a more fertile (intermediate) phenotype. Each so called SVI (sterile towards intermediate) plant is affected independantly and all the tillers of one plant are affected simultaneously (THIELLEMENT, 1977 b); (2) these modifications of the phenotype reflect some hereditary changes since the different phenotypes gave different proportions of phenotypes in their offsprings (THIELLEMENT, 1977 c). In this F_{10} generation S (male-sterile) plants were found only in the progenies of S mother plants (63 p. 100). (3) In the F_{11} generation described in the precedent paper (THIELLEMENT, 1979 b) no further S plants were found, even from F_{10} S mother plants. We noticed a "grand-mother effect" in the progenies of F_{10} I plants i.e. different proportions of phenotypes were found depending upon the phenotype of the BC_9 ancestor plant. However, the segregation pattern was very similar in the progenies of I plants at the F_{10} and F_{11} generations, in contrast with the S plants, in our greenhouse conditions.

We report here observations on the F_{12} generation, from open pollinated F_{11} I plants.

Material and Methods

Material

The ninth back cross (BC_9) of the Ad 23 line (spring type of *Vicia faba minor* bred by BERTHELEM) on the "447" cytoplasm was provided by PICARD.

The open pollination of this BC_9 in isolation gave the F_{10} generation. The nine F_{10} I plants which gave seeds both by self pollination and open pollination gave the F_{11} generation. In this F_{11} , eleven I plants, arising from open pollination, were chosen and gave, by open pollination, the F_{12} plants studied in this paper. This genealogy is presented in figure 1.

Phenotypic determination

As previously described (THIELLEMENT, 1977 b, 1979 b), we define by visual observation three flower phenotypes:

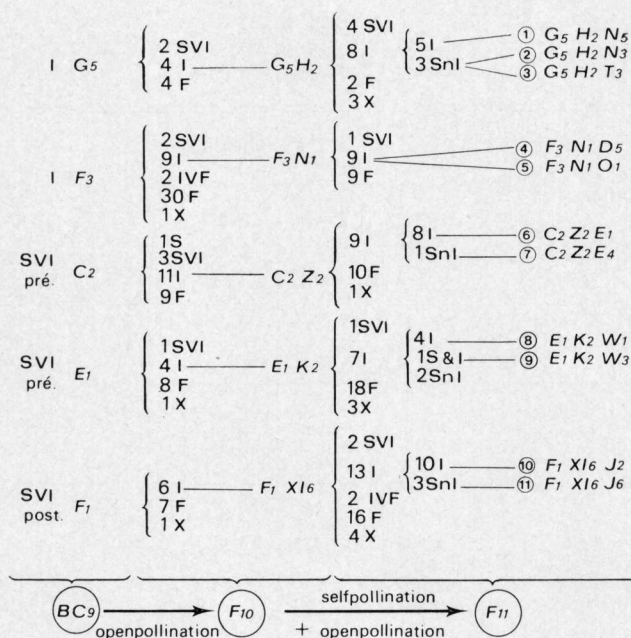
- S, for male-sterile with no pollen and grey-brown shrunken stamens;
- F, for male-fertile with abundant white pollen and usually black stamens, and;

- I, for intermediate, any observation not entering the two preceding classes, ranging from very little pollen to yellow pollen with grey-brown stamens.

Since one plant can present different flower phenotypes, we noted:

- S, I or F the plants with the same phenotype at each observation;
- SVI (stérile vers intermédiaire) or IVF (intermédiaire vers fertile) the plants showing on their different tillers the S ("pre" sectors) then the I ("post" sectors) phenotype and the I then the F phenotype respectively. The phenotypic modification (gradual somatic reversion) takes place at the same time on all the tillers of one plant;

- X plants are those with different phenotypes on different tillers such as I/F with a I main tiller and one or several F secondary tillers.

FIG. 1. — Genealogy of the F_{11} mother plants

In the past we also grouped a phenotype which has black stamens and no pollen in the I class. Noted "Sn" (stérile noir) this phenotype was taken as I since most of the time not every stamen of one flower was black, the others being grey brown with little pollen *i.e.* I stamens. When all the stamens are black, the flower next in the inflorescence or the flowers of the upper or lower nodes were "classical I".

However, since only a part of the I plants are able to self pollinate as tested in F_{10} , we chose to study the offspring of 4 I plants frequently showing the Sn phenotype. The progenies of those "SnI" plants are compared with the progenies of their "classical I" sister plants.

Another atypical plant, noted "S & I", was retained, which showed alternatively but with no regularity, the S and the I phenotypes.

The eleven F_{11} mother plants, the open pollinated progeny of which is presented in this paper, are described in figure 1.

Results

1. — Variability among I phenotypes (table 1)

There is a great variability between each "classical I" plant, as shown by the contribution they give to each phenotypic class in their progeny (see table 1, lines 1, 4, 5, 6, 8, 10). The same feature was previously observed in the BC₉ I plant progenies (THIELLEMENT, 1977 c).

TABLE I

Progenies from F₁₁ I plants

Mother plants (phenotype)	F ₁₂ phenotypes					Number of F ₁₂ plants
	SVI	I (SnI)	IVF	F	X	
(1) G ₅ H ₂ N ₅ (I)	—	5	—	14	1	20
(2) G ₅ H ₂ N ₃ (SnI)	10	26 (5)	—	12	4	52
(3) G ₅ H ₂ T ₃ (SnI)	4	25	—	4	3	36
(4) F ₃ N ₁ D ₅ (I)	—	7	—	7	2	16
(5) F ₃ N ₁ O ₁ (I)	—	3	—	13	—	16
(6) C ₂ Z ₂ E ₁ (I)	1	16	—	—	1	18
(7) C ₂ Z ₂ E ₄ (SnI)	4	21 (17)	—	10	1	36
(8) E ₁ K ₂ W ₁ (I)	—	2	—	14	—	16
(9) E ₁ K ₂ X ₃ (S & I)	1	9	1	12	1	24
(10) F ₁ X ₁ I ₆ J ₂ (I)	—	6 (1)	—	10	2	18
(11) F ₁ X ₁ I ₆ J ₆ (SnI)	1	6 (6)	—	25	10	42
(12) TOTAL I { No.	1	39 (1)	—	58	6	104
{ Freq.	.01	.37	.00	.56	.06	
(13) TOTAL SnI { No.	19	78 (28)	—	51	18	166
{ Freq.	.11	.47	.00	.31	.11	
(14) TOTAL { No.	21	126 (29)	1	121	25	294
{ Freq.	.07	.43	—	.41	.09	

The phenotypes are described in the "Material & Methods" section. The F₁₂ plants showing Sn or SnI phenotypes are indicated in brackets in the I column.

Among them, the C₂Z₂E₁ plant (6) is remarkable since it is the only mother plant with no F progeny, whereas the mean percentage of F plants in a I offspring is between 40 and 50 p. 100 (see below table 3). The only SVI plant in these "classical I" progenies also originated from this mother plant.

The S & I plant E₁K₂X₃ (9) gave every kind of phenotype (except SnI) and, even if it is the only one furnishing an IVF plant, the proportions of the different phenotypes are very like an I progeny.

Grouping the progenies of the SnI plants (line 13) to compare them with the classical I progenies (line 12), we tested the identity of the two distributions by

a χ^2 test. The p value obtained in a 2×4 table is below 0.01. It is therefore clear that the *SnI* phenotype is different from the classical *I*. However, once again the variability between each *SnI* mother plant should be noted. One can observe the differential contributions of the plants (2), (3) and (7) on the one hand, with numerous *SVI* and *I* plants and the plant (11) on the other hand, with numerous *F* plants.

SnI plants are found in these progenies (number in brackets in the *I* column of table 1). All, except one, came from *SnI* mothers. The *SnI* plant (3) did not furnish any *SnI* progeny. The *I* class of the *SnI* plant (11) is entirely constituted by *SnI* plants.

2. — *A new male sterile phenotype*

Of the 29 *SnI* plants found in F_{12} , six were fully male-sterile *i.e.* all the flowers observed (about forty per plant) had every stamen black and no pollen.

This new plant phenotype, homogeneous *Sn*, is observed in 3 plants from $C2Z2E4$ (7), 2 from $G5H2N2$ (2) and 1 from $FrXI6J6$ (11). The *Sn* plants are thus found only in the progeny of *SnI* plants.

3. — *A third generation effect (table 2)*

In a previous paper (THIELLEMENT 1979 *b*) we found, comparing the progenies of 4 *I* from *I* plants with those of 5 *I* from *SVI* plants, what has been called a "grand-mother effect". That is different proportions of phenotypes were found according to the phenotype of the grand-mother plant, a more fertile F_{11} progeny occurring more often when the F_{10} *I* plant was from a BC_9 *SVI* plant than when the F_{10} *I* was from a BC_9 *I* plant.

We tested on these F_{12} offsprings whether it was still noticeable one generation later. For this purpose the progenies of F_{11} plants from the BC_9 *I* plants $G5$ and $F3$ were compared with the progenies of F_{11} plants from the BC_9 *SVI* plants $C2$, $E1$ and Fr .

The χ^2 test performed on a 2×4 table gives a $0.10 > p > 0.05$ and comparing *SVI* + *I* and *IVF* + *F* classes (contingency table 2×2) $0.05 > p > 0.02$. Thus

TABLE 2

F₁₂ progenies according to their BC₉ ancestor

Phenotypic genealogy (number of plants)			<i>F₁₂</i> phenotypes					Number of <i>F₁₂</i> plants
<i>BC₉</i>	<i>F₁₀</i>	<i>F₁₁</i>	<i>SVI</i>	<i>I</i>	<i>IVF</i>	<i>F</i>	<i>X</i>	
<i>I</i> (2)	<i>I</i> (2)	<i>I</i> + <i>SnI</i> (5)	14	66	0	50	10	140
<i>SVI</i> (3)	<i>I</i> (3)	<i>I</i> + <i>SnI</i> + <i>S</i> × <i>I</i> (6)	7	60	1	71	15	164

The phenotypes are described in the text.

the probability values are similar to those found in the previous generation and once again a more fertile progeny arises more often from SVI ancestors than from I ancestors.

4. — Comparison of phenotypic frequencies between generations (table 3)

As pointed out in the introduction, we found in F_{11} progenies the same proportions of phenotypes as those found in F_{10} , in both cases from I mother plants. This result is contradictory with the S progenies where we noticed such a shift

TABLE 3
Phenotypic frequencies of I progenies in F_{10} , F_{11} and F_{12} generations

I mother plants (number)	Phenotypic frequencies					Number of plants in progeny
	SVI	I	IVF	F	X	
BC ₉ (6)	.10	.33	.04	.50	.03	90
F ₁₀ (9)	.07	.32	.01	.48	.12	142
F ₁₁ (6)	.01	.37	.00	.56	.06	104

Only the classical I plants are considered in F_{11} . The phenotypes are described in the text.

that no further S plants were seen in F_{11} . In table 3 are given the phenotypic frequencies observed in F_{10} , F_{11} and F_{12} . Only the F_{12} progeny arising from classical I mother plants is considered, since in the previous generation only F_{10} I plants able to selfpollinate (i.e. not SnI plants) were chosen.

The χ^2 test is performed first comparing the number of plants in the SVI, I, IVF + F and X classes, in a 4×3 table, giving a $0.02 > p > 0.01$. Thus, at least two among the three distributions are different. However, comparing SVI + I and IVF + F classes in a 2×3 table, these three distributions are very similar ($0.90 > p > 0.75$).

The IVF class has always been the rarest. The discrepancy observed between the two methods of calculation is thus mainly explained by the decrease of the SVI class from 10 p. 100 to 7 p. 100 then to 1. p 100.

Interpretation - Discussion

Heterogeneity among I phenotypes is demonstrated by comparing the progenies from SnI plants and from classical I plants (table 1). The working hypothesis of cytoplasmic heterogeneity, where two kinds of plasmons -S and F- coexist in different proportions in each plant, may explain this result.

Somatic segregations may be supposed to be frequent in female gametogenesis since different phenotypes occur in the progeny. If they occur at random, the proportions of plant phenotypes in the progeny could reflect in some way the mean proportions of the two different plasmons in the mother plant's cells, at the

time when ovules are formed. The less frequent occurrence of F plants in SnI progenies may reflect their higher proportions of S plasmons, as compared to their classical I sister plants. The more frequent occurrence of SVI plants from SnI mothers has the same interpretation.

The third generation effect on this F₁₂ (table 2) may be explained in the same way as the grand mother effect on the F₁₁, mainly by a greater "instability potential" in plants arising from an SVI ancestor. The phenotypic shift from S to I is, on our hypothesis the manifestation of the progressive overcoming of the S by the F plasmons. The I phenotype in these SVI plants is a transient state where variation continues, since I (post) sectors gave a globally more fertile progeny than the homogeneous I sister plants. Two generations later, the same instable cytoplasmic state leads to the same effect, a higher proportion of L plants arising from SVI ancestor. One may point out, following this idea, that the rare IVF plants were found in F₁₁ (THIELLEMENT, 1979 *b*) and in F₁₂ (table 1) in I progenies with SVI ancestor plants. In other words, plants coming from SVI ancestor may still have an evolving cytoplasm where F plasmons continue to overcome S plasmons more quickly than in plants from I ancestors.

The phenotypic frequencies of the I progenies in F₁₀, F₁₁ and F₁₂ are similar only when (1) grouping the SVI and the I classes and (2) by taking into account only the classical I F₁₁ mother plants (table 3). This method of calculation has a biological meaning since (1) progenies from SVI plants (cumulated pre and post offsprings) and from I plants had the same phenotypic frequencies in F₁₀ (THIELLEMENT, 1977 *c*) and since (2) only the I plants able to selfpollinate (not SnI plants) gave the F₁₁ progenies.

Nevertheless, an evolution can be noted concerning the SVI and the F classes in F₁₂ (table 3). On our hypothesis, the explanation is a progressive decrease of the mean proportions of S plasmons, with a correlative increase of the F plasmons, in classical I plants. Thus we can not consider I progenies to be similar between generations. As in the S genealogy from BC₉ to F₁₁, a progressive shift is noted towards fertility in the I genealogy from BC₉ to F₁₂. However, if it was true for every S plant, it is not the case here since SnI plants are globally less fertile and may even provide fully male sterile plants.

Since we define the cytoplasmic composition of the plants by the phenotypes found in their progeny, we try in figure 2 to represent the genealogy of the F₁₁ plants from the BC₉. Each plant is described by its percentage of F plants in the progeny as it is considered to be related to its proportions of F plasmons.

F₁₁ classical I plants can be described by between 0 p. 100 (6) and 88 p. 100 (8)

BC ₉	F ₁₀	F ₁₁
I-40 %	→ I-12 %	→ { (1) I-70 % (2) SnI-23 % (3) SnI-11 %
I-68 %	→ I-47 %	→ { (4) I-44 % (5) I-81 %
SVIpre-46 %	→ I-50 %	→ { (6) I-0 % (7) SnI-28 %
SVIpre-57 %	→ I-62 %	→ { (8) I-88 % (9) S & I-50 %
SVIpost-50 %	→ I-43 %	→ { (10) I-56 % (11) SnI-60 %

FIG. 2. — Description of mother plants by their percentage of F + IVF progeny. Genealogy.

F plants, and *SnI* plants by between 11 p. 100 (3) and 60 p. 100 (11) F plants. This large variance within each class, already noted in the Results section, seems contradictory with the explanations given above for their phenotypic differences.

The unstable state supposed in the SVI genealogy of the last line is not evident with 50 p. 100 to 43 p. 100 to 56 p. 100. And in contrast, the first line with 40 p. 100 to 12 p. 100 to 70 p. 100 is much more variable, although it is supposed to be less unstable (I genealogy).

Almost every plant and every genealogy appear to be exceptions to the rules suggested above. Therefore, the laws deduced at a global level can not help to understand any one individual progeny.

The main explanation that can be suggested to resolve this discrepancy is that we are dealing here with a chance phenomenon. The occurrence of phenotypes depends upon somatic segregations which occur at random, at least during female gametogenesis. The weak multiplication coefficient of faba beans is indeed a barrier to the genetical understanding of such a phenomenon, and it is only by summing individual progenies that segregation laws are deductible. However, some plants can provide rather numerous progenies, as the *SnI* plants studied in this paper, with at least 36 plants per progeny. We thus must find, in large offsprings, frequency values closed to the means. In the present data, it is not the case.

Since we do not yet have the offspring of F_{12} *Sn* plants, it is premature to discuss them. Nevertheless one can suggest, by their occurrence only in *SnI* progenies, that may be a new event, correlated or not with the intermediate fertility phenotype, takes place or is revealed in those plants.

Conclusion

Heterogeneity is demonstrated within the I class of phenotypes. The segregation patterns are different between 4 *SnI* and 6 classical I progenies. An ancestor effect is still visible two generations later, the F_{12} is globally more fertile when from BC_9 SVI plants than when from BC_9 I plants. An evolution can be noted between classical I progenies at different generations, *i.e.* in F_{12} a slight shift towards fertility. In *SnI* progenies, 6 fully male sterile plants were found with a new phenotype *Sn* (black stamens).

Previously suggested rules of transmission, on the two plasmons hypothesis, may explain these results at a global, population level. However, they do not fit any individual genealogy.

Different kinds of experiments are needed and are presently in progress. The pollen phenotype may be too far, ontogenically, from the hypothetic cytoplasmic events, and this is also an explanation for the departure of individual progenies from the global laws, biochemical markers of cytoplasmic states may help to clarify this idea.

The definition and classification of phenotypes are obtained from their progeny. Other methods, such as multivariate analyses, may provide new directions for the interpretations.

Theoretical work which might provide a better fit of the results to the hypothesis is also needed. There are many possible approaches: one may suggest for instance new types of plasmons, recombined or mutant for example, leading perhaps to homoplasmon I plants or the new *Sn* phenotype.

In any case, the fact that laws deduced from global analysis can not be applied to individuals may well explain the failure of all selection programmes dealing with cytoplasmic male sterility in faba beans.

Nevertheless, the new male sterile phenotype must be studied further to determine if, by chance, a new stable male sterile form can be obtained.

Reçu pour publication en juillet 1979.

Aknowledgements

The financial support was provided by A.M.S.O.L. Proteagineux. Thanks are due to many colleagues with who this paper was discussed and especially Felicity VEAR for her help in english.

Addendum

Since this paper has been sent for publication, a new generation has been studied. The S_n phenotype is inherited but in the same instable way than other phenotypes. Frequencies of the F_{13} phenotypes confirm that indeed the two plasmons hypothesis is no more valid. A new explanation, lying also on cytoplasmic heterogeneity, has been proposed (THIELLEMENT, 1980) and will be published.

Résumé

La stérilité mâle cytoplasmique chez Vicia faba L.

V. — Phénotypes intermédiaires

Cette étude porte sur la F_{13} , quatrième génération en conditions de serre d'une lignée mâle stérile cytoplasmique. On met en évidence une hétérogénéité parmi les plantes I (intermédiaire) (tabl. 1). Parmi elles, les plantes S_nI (qui présente le phénotype S_n , étamines noires sans pollen, associé au phénotype I, peu de pollen) fournissent une descendance globalement moins fertile que les plantes sœurs homogènes I. Dans la descendance des plantes S_nI , on a trouvé 6 plantes S_n homogènes, complètement mâle-stériles.

Lorsque l'on compare les proportions des descendants des plantes F_{11} selon le phénotype I ou SVI de leur ancêtre maternel du BC_9 , on trouve un effet à la troisième génération (tabl. 2) analogue à l'effet grand-mère précédemment décrit.

Dans le tableau 3, sont comparées les fréquences de phénotypes dans les descendance de plantes I du BC_9 , de la F_{10} et de la F_{11} . On constate une légère évolution vers la fertilité (décroissance de la classe SVI, croissance de la classe F) dans ces descendance de plantes I classiques.

Considérés globalement, au niveau population, ces résultats peuvent s'interpréter par l'hypothèse de deux cytoplasmones en proportions variables. Cependant on ne peut appliquer ces lois aux descendance et généalogies individuelles. Ceci pose la question de la validité de l'hypothèse.

References

- BERTHELEM P., 1970. *Rapport d'activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes, 1968-1970*, I.N.R.A.
 BERTHELEM P., LE GUEN J., 1974. *Rapport d'activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes, 1971-1974*, I.N.R.A.
 BOND D. A., FYFE J. L., TOYNBEE-CLARKE G., 1966a. Male-sterility in field beans. III. Male-sterility with a cytoplasmic type of inheritance. *J. agric. Sci., Camb.* **66**, 359-367.

- BOND D. A., FYFE J. L., TOYNBEE-CLARKE G., 1966b. Male-sterility in field beans. IV. Use of cytoplasmic male-sterility in the production of F₁ hybrids, and their performance in trials. *J. agric. Sci., Camb.* **66**, 369-377.
- DUC G., 1978. *Modalités d'expression et hypothèses explicatives du manque de stabilité de la stérilité mâle cytoplasmique de la féverole (Vicia faba L.)*. Thèse D^r Ing. Université de Paris-Sud, 59 p.
- PICARD J., 1972. — Rapport d'activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Dijon, 1968-1972, I.N.R.A.
- THIELLEMENT H., 1977a. La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L.I. Historique et hypothèses. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, 203-209.
- THIELLEMENT H., 1977b. La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L.II. Hétérogénéité phénotypique d'une lignée mâle-stérile. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, 547-553.
- THIELLEMENT H., 1977c. La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L.III. Hérité des phénotypes polliniques. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, 555-562.
- THIELLEMENT H., 1978. Sur la réversion somatique de la stérilité mâle nucléo-cytoplasmique chez *Vicia faba* L. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **287**, Série D, 29-32.
- THIELLEMENT H., 1979a. Sur quelques descendance de plantes présentant simultanément deux phénotypes polliniques, à déterminisme non-mendélien, chez *Vicia faba* L. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **288**, Série D, 827-830.
- THIELLEMENT H., 1979b. Cytoplasmic male sterility in *Vicia faba* L. IV. A grand mother effect. *Ann. Amélior. Plantes*, **29** (2), 163-171.
- THIELLEMENT H., 1980. *Mémoire sur les Travaux*. Concours chargé de Recherches I.N.R.A.
-

Les caractéristiques électrophorétiques des gliadines et la valeur en panification du Blé tendre

G. BRANLARD et M. ROUSSET

*Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.,
Domaine de Crouelle, 63100 Clermont-Ferrand*

Résumé

Les techniques de panification actuellement les plus employées en France exigent des farines « de force » assez élevée. Il semble que les tests technologiques utilisés classiquement dans la sélection du Blé tendre soient efficaces pour l'obtention de génotypes de valeur boulangère courante mais relativement inefficaces dans la recherche de grains à gluten fort (blés améliorants ou de force).

Le but de nos recherches était, tout en précisant les bases biochimiques de la valeur en panification, de mettre au point un test capable de mieux appréhender la valeur intrinsèque des génotypes.

Nos études ont porté sur des cultivars inscrits au Catalogue Officiel des Espèces et Variétés pour lesquels on connaissait, d'une part les caractéristiques technologiques évaluées par des tests technologiques classiques et d'autre part les caractéristiques de l'électrophorogramme des gliadines sur gel d'amidon.

Il ressort que les gliadines de faible poids moléculaire (α et β) auraient globalement un rôle fonctionnel opposé à celui des gliadines de poids moléculaire plus élevé : un accroissement de la concentration des gliadines de faible poids moléculaire allant dans le sens d'une amélioration de la force boulangère. Ce fait établi à l'aide de corrélations simples : concentrations relatives des groupes de gliadines et leurs rapports — valeurs des tests technologiques, s'est trouvé confirmé par une analyse en composantes principales.

Par ailleurs une étude des corrélations : bandes de l'électrophorogramme des gliadines — tests de technologie nous a conduit à ranger les bandes en 3 classes suivant le sens des corrélations et leur signification et à établir le diagramme théorique type d'un génotype de force boulangère élevée.

Un calcul de régression multiple nous a permis « d'expliquer » le caractère « valeur du W » (force) à partir des 43 bandes possibles de l'électrophorogramme des gliadines.

Quelle que soit la nature des liaisons mises en évidence (liaisons génétiques — liaisons fonctionnelles), il semble qu'avec l'électrophorèse des gliadines sur gel d'amidon nous disposions d'un outil capable d'accroître l'efficacité de la sélection pour l'obtention de génotypes de blé de haute valeur boulangère.

Introduction

Plus de 45 millions de quintaux de blé tendre sont destinés, chaque année, en France à la boulangerie.

Les techniques de panification actuellement les plus employées exigent des farines possédant des propriétés rhéologiques particulières : telles qu'une « force » assez élevée.

Pour BOURDET (1977), la « force » d'une farine ou d'un blé, composante essentielle de la qualité boulangère serait « la plus ou moins grande aptitude des farines à s'hydrater, puis des pâtes à se développer tout en retenant le CO_2 formé depuis la fermentation jusqu'à la cuisson ».

Différents facteurs agissent sur l'expression de la valeur en panification d'un lot de grains récolté chez l'agriculteur, ce sont schématiquement :

- le génotype,
- le milieu,
- l'interaction génotype $\times$ milieu.

Le rôle de premier plan tenu par le génotype conduit à porter une attention particulière au jugement de cette valeur en panification dans un programme d'obtention variétale.

La valeur génotypique (ou intrinsèque) pour ce caractère recouvre de notre point de vue deux notions :

- une valeur en panification potentielle ou intrinsèque *sensu stricto* qui doit permettre d'établir une hiérarchie entre génotypes;
- une étendue de variation de la valeur en panification que le génotype exprime dans une gamme de milieux donnée. Cette étendue de variation représente l'influence possible du milieu sur l'expression du génotype (phénotype), elle est en grande partie le reflet de l'adaptation au milieu du génotype.

Classiquement, le jugement des génotypes en cours de sélection après hybridation est réalisé à l'aide d'une série de tests d'appréciation de la valeur boulangère. Ces tests sont soit directs, différents tests de panification donnent une appréciation globale de la valeur boulangère d'un blé, soit indirects, ils ont alors pour but d'étudier certains aspects de la valeur en panification et de ce fait ils se caractérisent par différents degrés de liaison (corrélation) entre eux ou avec un test de panification de référence.

Parmi les tests directs, le plus utilisé en France est l'essai de panification C.N.E.R.N.A. ⁽¹⁾ tandis que l'on peut citer parmi les tests indirects les plus répandus :

- l'indice de sédimentation (ZELENY L., 1947), l'alvéographe CHOPIN (W et G) et le farinographe BRABENDER.

L'utilisation conjointe de plusieurs tests complémentaires afin d'apprécier les différents aspects de la valeur en panification et le contrôle des effets « année » en répétant ces tests plusieurs générations de suite se révèlent souvent efficaces dans l'obtention de lignées de valeur en panification courante.

(1) Centre National de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation.

Cependant, on constate que les méthodes « classiques » de sélection pour la valeur en panification, même perfectionnées, semblent échouer dans l'obtention de lignées de haute valeur en panification (blés améliorants — blés de force) et de bonne valeur agronomique.

Une cause possible serait que les méthodes de sélection classiques sont inefficaces pour atteindre un tel but du fait de l'inaptitude des tests utilisés à bien juger la valeur en panification intrinsèque ou encore la force boulangère des génotypes dans les générations de sélection précoces (évaluation des potentialités d'un génotype hétérozygote à donner, dans sa descendance, des lignées de haute valeur boulangère).

A la suite de ces constatations, un travail de recherche a débuté au laboratoire du blé à Clermont-Ferrand, en relation avec d'autres laboratoires ⁽²⁾, pour tenter de mieux approcher la valeur en panification intrinsèque des génotypes afin d'améliorer l'efficacité de la sélection.

Le présent article a pour but de décrire une approche biochimique du problème.

Quelques réflexions sur les bases biochimiques de la valeur boulangère

La variation des qualités fermentatives des pâtes qui peut être d'origine génétique (blés sensibles à la germination sur pied qui donnent des grains à forte activité amylasique) est principalement conditionnée par les facteurs du milieu et plus particulièrement le climat au moment de la maturation.

Ces qualités fermentatives devront être prises en compte au moment du jugement de la valeur en panification des génotypes (indice de chute HAGBERG) sans être, en général, — sauf cas extrême — retenues comme critères de sélection.

Dans un programme de sélection pour la valeur en panification le sélectionneur devra s'intéresser principalement au caractère « force » des blés.

La valeur en panification mesurée par un test direct de panification intègre les différentes composantes de cette valeur (qualités physiques de la pâte — qualités fermentatives). On peut penser *a priori* qu'un caractère composite comme celui-ci sera nécessairement à déterminisme génétique complexe et fortement influencé par le milieu (héritabilité faible).

La « dissection » de la valeur en panification en ses composantes mesurées par différents tests indirects peut conduire à retenir des critères à déterminisme génétique plus simple moins influencés par le milieu et donc à héritabilité plus forte. Une telle « dissection » peut atteindre le niveau biochimique.

Sachant que chacun des constituants du grain de blé joue un rôle seul ou en interaction avec d'autres, dans l'expression de la valeur boulangère, il importe de savoir quels sont ceux dont la variation en quantité et en qualité a pour résultat le plus direct la variation de la valeur en panification.

Les propriétés rhéologiques de la pâte (viscosité, élasticité, force) déterminent largement le volume et la structure de la mie de pain (WRIGLEY et MOSS, 1968). Plusieurs travaux ont montré le rôle direct des fractions protéiques d'OSBORNE (modifiées dans leurs caractéristiques de solubilité) dans les processus de panification. FINNEY (1971) constate que les gliadines contribuent à l'extensibilité de

⁽²⁾ Laboratoires appartenant au groupe de travail « biochimie-génétique » de l'I.N.R.A.

la pâte, tandis que les gluténines comprenant les résidus protéiques de haut poids moléculaire, contribuent à l'élasticité et à la stabilité au cours du pétrissage. Les résultats de PRESTON *et al.* (1975) montrent que le rôle de certaines protéines spécifiques du gluten peut être relativement plus important que celui d'autres dans la transformation de la pâte. Ils observent notamment, que par substitution des protéines de différents groupes dans une farine synthétique, les gliadines sont indispensables pour maintenir la visco-élasticité de la pâte. Par ailleurs les travaux rapportés par SOZINOV *et al.* (1974) au sujet du polymorphisme électrophorétique de lignées en F₆-F₇ issues du croisement de 4 variétés révèlent que la composition des gliadines est fortement reliée au gonflement des farines dans l'acide acétique et au volume du pain. Des études analogues ont été conduites sur les gluténines (ORTH et BUSHUK, 1973) mais le nombre limité d'échantillons et la proximité génétique des variétés analysées ne permettent pas de généraliser l'ensemble des conclusions.

Étant donné la complexité des processus de panification, il est sûr que l'aptitude à donner par exemple un gluten de force n'est pas le seul fait d'un groupe de protéines. Cependant, compte tenu de ce qui est dit ci-dessus et des résultats de ROUSSET et BRANLARD (1977) sur le Blé tendre, il apparaît que les gliadines pourraient jouer un rôle dans l'expression de la force boulangère.

Depuis les travaux d'AUTRAN et BOURDET (1975), il est possible d'identifier les variétés de blé par l'étude du comportement des gliadines-protéines de réserve solubles dans l'éthanol à 70 p. 100-en électrophorèse sur gel d'amidon. Chacun des cultivars inscrits au Catalogue officiel des espèces et variétés possède un diagramme électrophorétique caractéristique.

Ce diagramme électrophorétique des gliadines non modifié par les facteurs du milieu (au moins pour la position des bandes) constitue d'une part un marquage biochimique des génotypes et d'autre part une caractérisation qualitative de ce groupe de protéines.

Partant de ces observations, nous nous sommes particulièrement intéressés aux relations qui pouvaient exister entre le polymorphisme des gliadines et la force boulangère de génotypes de blé tendre.

Matériel et méthodes

I. — Matériel

Un grand nombre de génotypes de blé ont fait l'objet d'une expérimentation par l'I.N.R.A., l'I.T.C.F. ⁽³⁾, l'ENSMIC ⁽⁴⁾ et les Grands Moulins de Pantin dans le but d'étudier les aptitudes technologiques des cultivars inscrits au Catalogue officiel des espèces et variétés. Pour les années 1971 et 1972 les génotypes étudiés figuraient dans des essais multilocaux (6 à 8 lieux) couvrant les principales régions de production céréalière françaises.

La liste de ces cultivars est donnée dans le tableau 1 :

Dans l'analyse en composantes principales, aux 37 cultivars expérimentés

⁽³⁾ I.T.C.F. : Institut Technique des Céréales et des Fourrages.

⁽⁴⁾ E.N.S.M.I.C. : École Nationale Supérieure de la Meunerie et des Industries Céréalières.

TABLEAU I

Matériel : liste des variétés connues pour leur diagramme électrophorétique et expérimentées en 1971-1972

1971	1972
« Bicoop »	« Bicoop »
« Bocquiau »	« Boulmiche »
« Boulmiche »	« Cadet »
« Cadet »	« César »
« César »	« Champlein »
« Champlein »	« Choisy »
« Choisy »	« Chrismar »
« Chrismar »	« Clairon »
« Clairon »	« Clément »
« Clément »	« Comtal »
« Comtal »	« Courtot »
« Courtot »	« Decius »
« Darius »	« Dragon »
« Decius »	« Ducat »
« Ducat »	« Fournil »
« Eloi »	« Goya »
« Eссор »	« Hardi »
« Flinor »	« Heima »
« Florent »	« Kolibri »
« Fournil »	« Lutin »
« Goya »	« Manella »
« Heima »	« Maris Huntsman »
« Kolibri »	« Montjoie »
« Lutin »	« Noroît »
« Magali »	« Peguy »
« Magdalena »	« Remois »
« Manella »	« Rex »
« Maris Huntsman »	« Sirius »
« Marly »	« Talent »
« Montjoie »	« Wattines »
« Peguy »	
« Rex »	
« Sirius »	
« Talent »	
« Trio »	
« Trippel »	
« Wattines »	

en 1971, nous avons adjoint 13 cultivars, connus également par leur diagramme électrophorétique mais tous apparentés au cultivar « Cappelle ». Ce sont :

« Atou », « Capitole », « Cappelle », « Capta », « Dragon », « Hardi », « Joss », « Moisson », « Noroît », « Ouest », « Remois », « Splendeur », « Top ».

2. — Méthodes

Utilisant les résultats des travaux d'AUTRAN et BOURDET (1975) nous disposons, pour chacun des cultivars étudiés, du diagramme électrophorétique des gliadines (mobilité et concentration relative des bandes) tandis que l'expérimen-

TABLEAU 2

Quelques tests d'appréciation de la valeur en panification

Test et abréviation employée	Principe	Caractéristiques mesurées
— Indice de sédimentation de ZELENY (I.S.)	Propriétés de gonflement des protéines du gluten en milieu acide	Quantité et qualité des protéines du gluten-Force
— Essai de l'alvéographe CHOPIN (autrefois extensimètre) (W) et (G)	Déformation d'un pâton sous la poussée d'un volume d'air déterminé (hydratation constante)	Propriétés rhéologiques d'une pâte
— Farinographe BRABENDER (*) (% H ₂ O)	Évolution des caractéristiques de plasticité de la pâte au cours d'un pétrissage (hydratation optimale)	Propriétés rhéologiques d'une pâte
— Panification C.N.E.R.N.A. (N.T.P.) (Note totale de panification)	Gonflement et cuisson de pâtons dans les conditions définies par le Centre National de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation	Valeur boulangère globale

(*) Pour les résultats rapportés dans cet article seul le taux d'hydratation (p. 100 H₂O) a été retenu, les caractéristiques rhéologiques n'étant pas disponibles.

TABLEAU 3

Échelle des classes de concentration relative définie pour chaque composant de l'électrophorégramme

Absorption du composant en % de l'absorption totale du diagramme	Échelle
0	0
0 à 1,5 %	tr
1,5 à 4,0 %	+
4,0 à 6,5 %	++
sup. à 6,5 %	+++

D'après AUTRAN et BOURDET (1975).

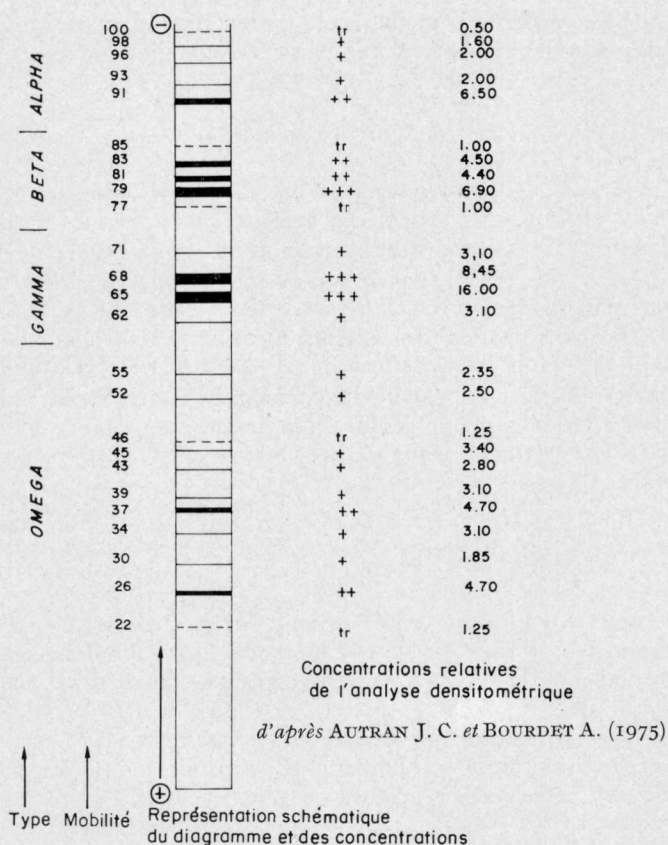


FIG. 1. — Analyse du spectre des gliadines de la variété « Aronde. »

tation rapportée ci-dessus (X, 1975) nous fournissait les valeurs technologiques des mêmes génotypes mesurées par les tests énumérés dans le tableau 2 (moyenne de 6 ou 8 essais).

L'analyse semi quantitative au densitomètre intégrateur des concentrations relatives des bandes (fig. 1) avait conduit AUTRAN et BOURDET à établir 5 classes de concentration : 0, traces, +, ++, +++ (tabl. 3).

Pour nos calculs de corrélations nous avons pris les valeurs moyennes des concentrations relatives de chacune des classes soit : 0-0,75-2,75-5,25-7,75.

2.1. Corrélations : groupes de gliadines - tests technologiques

Pour chaque variété nous avons calculé la somme des concentrations relatives des alpha, bêta, gamma et oméga gliadines (se reporter à la fig. 1 pour la classification). Ces données nous ont permis de calculer les rapports (des concentrations) suivants :

$$\frac{\text{Alpha}}{\text{Gamma}}, \frac{\text{Alpha}}{\text{Oméga}}, \frac{\text{Bêta}}{\text{Gamma}}, \frac{\text{Bêta}}{\text{Oméga}}, \frac{\text{Alpha} + \text{Bêta}}{\text{Gamma}}, \frac{\text{Alpha} + \text{Bêta}}{\text{Gamma} + \text{Oméga}} \text{ et } \frac{\text{Alpha} + \text{Bêta} + \text{Gamma}}{\text{Oméga}}$$

Le but de ces regroupements a été d'identifier la ou les fractions principalement reliées à un ou plusieurs des tests technologiques.

2.2. *Corrélations : bandes (mobilité, concentration relative) - valeurs des tests technologiques.*

AUTRAN et BOURDET (1975) ont recensé 43 bandes de mobilités différentes sur les électrophorégrammes d'un ensemble de 73 cultivars de blés tendres.

Avec les 37 et 30 cultivars expérimentés respectivement en 1971 et 1972 nous avons calculé les corrélations entre les valeurs des 5 tests technologiques retenus et les valeurs des concentrations relatives de chacune des 43 bandes possibles. Nous avons donc effectué $4 \times 43 = 215$ corrélations.

Le but de ces derniers calculs de corrélation a été de voir dans quelle mesure telle ou telle bande pouvait rendre compte par sa présence et sa concentration relative du comportement d'une variété dans les tests d'appréciation de la qualité boulangère.

2.3. *Autres analyses statistiques.*

— L'analyse en composantes principales (BENZECRI, 1973) a été employée pour dégager la position de 50 cultivars de forces boulangères différentes par rapport aux axes factoriels définis par les groupes de gliadines et les tests de technologie.

— La régression multiple progressive (TRANCHEFORT, 1974) nous a permis d'expliquer le caractère force boulangère, exprimé par le W, à partir du polymorphisme des gliadines (variables explicatives).

Résultats et discussion

1. — *Corrélations : Groupes de gliadines - tests technologiques*

Le tableau n° 4 présente les corrélations obtenues entre les variables des tests technologiques et les sommes des concentrations relatives Alpha, Bêta, Gamma et Oméga gliadines ainsi que leurs rapports.

Notons tout d'abord qu'il existe une bonne corrélation ($r = 0,835^{**}$ entre le test de ZELENY et le W de l'alvéogramme.

Peu de liens semblent exister d'une façon générale entre ces tests et les sommes de concentrations relatives des gliadines que nous avons calculées. Nous notons cependant une corrélation faible ($r = 0,275^*$, $n = 50$) entre le total des alpha gliadines et le W de l'alvéogramme. Ce lien semble se préciser pour les rapports Alpha/Gamma, Alpha/Oméga et $(\text{Alpha} + \text{Bêta})/(\text{Gamma} + \text{Oméga})$ avec les valeurs du W.

Dans l'hypothèse où les gliadines auraient un rôle fonctionnel dans la rhéologie des pâtes (qui conditionne la qualité boulangère) ces résultats tendraient à indiquer que les gliadines de faible poids moléculaire (Alpha et Bêta) ont globalement un rôle opposé à celui des gliadines de poids moléculaire plus élevé (Gamma

TABLEAU 4

Corrélations entre groupes de gliadines et tests technologiques
pour 50 cultivars de Blé tendre

	Protéines totales (1)	I.S.	Alvéogramme		% H ₂ O	N.T.P.
			W	G		
Protéines totales	1,000	0,618(**)	0,470(**)	0,125	0,314(*)	— 0,200
I.S.	0,618(**)	1,000	0,835(**)	0,406(**)	0,283(*)	0,175
W	0,470(**)	0,835(**)	1,000	0,101	0,205	0,354(*)
G	0,125	0,406(**)	0,101	1,000	0,208	0,293(*)
% H ₂ O	0,314	0,283(*)	0,205	0,208	1,000	0,039
N.T.P.	— 0,200	0,175	0,354(*)	0,293(*)	0,039	1,000
Alpha	0,318(*)	0,189	0,275(*)	— 0,034	0,043	— 0,047
Bêta	0,187	0,224	0,072	0,035	0,049	0,179
Gamma	— 0,315(*)	— 0,189	— 0,149	0,191	— 0,098	0,259
Oméga	— 0,095	— 0,173	— 0,164	— 0,132	0,113	— 0,057
Alpha/Gamma	0,408(**)	0,252	0,288(*)	0,219	0,118	— 0,201
Alpha/Oméga	0,295	0,236	0,289(*)	0,052	0,029	0,013
Bêta/Gamma	0,282(*)	0,244	0,143	— 0,106	0,103	— 0,226
Bêta/Oméga	0,204	0,271	0,174	0,090	0,034	0,056
(Alpha + Bêta)/ Gamma	0,273	0,288(*)	0,254	0,079	— 0,040	— 0,070
(Alpha + Bêta)/ (Gamma + Oméga)	0,369(**)	0,331(*)	0,276(*)	— 0,024	0,032	0,173
(Alpha + Bêta + Gamma)/Omé- ga	0,142	0,021	0,191	0,157	— 0,085	0,038

(*) Significatif au seuil de 5 p. 100.

(**) Significatif au seuil de 1 p. 100 ($n = 50$).

(1) (N-KJELDAHL % de la matière sèche) $\times 5,7$.

I.S. = indice de sédimentation de ZELENY.

W

G } test de l'alvéographe CHOPIN.

% H₂O = taux d'hydratation dans l'essai du farinographe BRABENDER.

N.T.P. = note totale dans l'essai de panification C.N.E.R.N.A.

et Oméga). Ceci confirme les observations de KASARDA *et al.* (1976) qui, par des techniques de biochimie, révèlent que les Oméga-gliadines sont peu aptes à participer au réseau protéique de la pâte du fait de leur structure moléculaire « en pelote ». Les Alpha et Bêta gliadines de structure moléculaire différente peuvent davantage s'associer au réseau protéique et jouer un rôle fonctionnel.

Notons par ailleurs l'existence de plusieurs corrélations significatives aux seuils de 5 p. 100 et 1 p. 100 entre le pourcentage de protéines totales du grain et les sommes des concentrations relatives des Alpha et Gamma gliadines (corrélation positive et négative respectivement) ainsi que les rapports Alpha/Gamma, et (Alpha + Bêta)/(Gamma + Oméga). Ces observations qui mériteraient d'être vérifiées par d'autres essais, indiquent que les variétés présentant dans l'expérimentation un potentiel de teneur plus élevée en protéines accumuleraient préférentiellement des Alpha et Bêta gliadines et moins de Gamma et Oméga gliadines.

Enfin signalons qu'il n'apparaît aucune corrélation entre les groupes de gliadines (ainsi que leurs rapports) et le pourcentage d'hydratation et la note totale de panification. Ceci est lié au fait que ces protéines n'agissent pas directement au niveau des caractéristiques mesurées dans ces tests.

2. — Répartition des blés de diverses qualités dans un plan factoriel

Sur les 50 blés d'origine française (37 peu ou pas apparentés entre eux et 13 plus ou moins apparentés à « Cappelle ») une analyse en composantes principales a été effectuée avec les variables suivantes : indice de sédimentation de ZELÉNY, W et G de l'alvéographe CHOPIN, taux d'hydratation au farinographe BRABENDER, note totale à l'essai de panification C.N.E.R.N.A. et les 11 données ci-dessus caractérisant les groupes de gliadines et leurs rapports.

Nous donnons figure 2 le troisième plan factoriel. L'axe 1 (horizontal) représente 34,9 p. 100 de l'inertie totale. Les variables les plus corrélées avec cet axe sont tous les groupes de gliadines (et leurs rapports) à l'exception des Alpha,

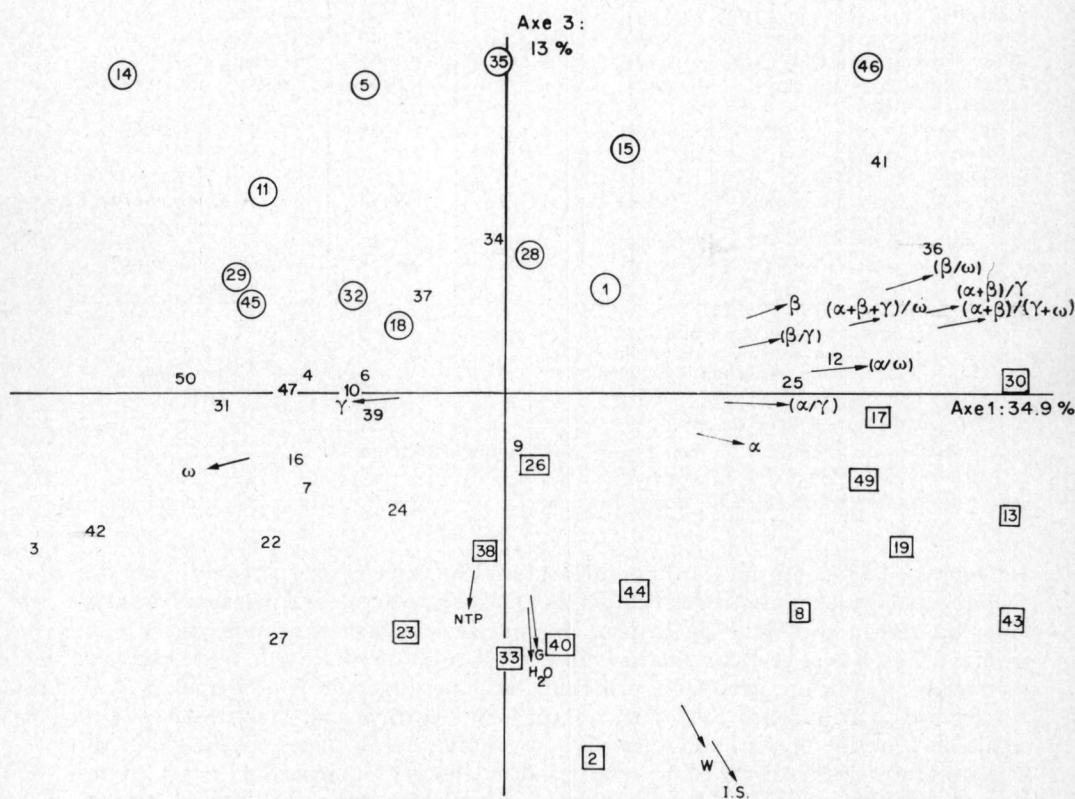


FIG. 2. — 3^e plan factoriel d'une analyse en composantes principales se rapportant aux 50 génotypes de blé étudiés et incluant les caractères suivants : concentrations relatives en α , β , γ et ω gliadines, NTP, H_2O , W, G, I.S.

Numéros encerclés : cultivars à $W < 110$.

Numéros encadrés : cultivars à $W > 200$.

Gamma et Bêta /Gamma. L'axe 3 (vertical) représente 13 p. 100 de l'inertie totale. Toutes les variables de technologie sont corrélées avec cet axe.

L'axe 3 dans le sens du haut vers le bas représente un gradient de qualité boulangère croissant. L'axe 1 caractérise de gauche à droite l'importance croissante des Alpha, Bêta gliadines par rapport aux Oméga et Gamma gliadines.

Parmi les 50 cultivars, 15 correspondent à des blés de bonne valeur boulangère, 11 sont considérés comme de mauvaise qualité ($W < 110$). Nous constatons que, sur la plan factoriel, les génotypes ayant un W supérieur ou égal à 200 sont précisément dans les directions où les gliadines de mobilité élevée sont les plus importantes. Réciproquement, les génotypes de qualité insuffisante se situent dans les zones où les gliadines de mobilité faible (Oméga et Gamma) sont prépondérantes.

Cette représentation factorielle révèle par conséquent que les types de gliadines (Alpha, Bêta, Gamma et Oméga) joueraient un rôle dans l'expression de la qualité boulangère.

3. — *Corrélations bandes - tests technologiques*

Chaque type de bande a été corrélé successivement avec les 5 tests retenus dans l'étude (tabl. 2). La plupart des corrélations effectuées avec la note d'hydratation au farinographe sont nulles ou très faibles.

Cette observation provient sans doute du fait que le pourcentage d'hydratation qui est un aspect de la force boulangère est non seulement lié aux caractéristiques protéiques du grain mais aussi à la quantité et à la qualité de l'amidon (degré d'endommagement) aspects qui ne sont pas directement pris en compte dans la présente étude.

Dans ce qui suit nous n'avons retenu que les 4 autres tests : I.S., W , G et N.T.P.

Les bandes de gliadines ont été regroupées en 3 classes de la façon suivante :

Classe 1 : toute bande qui est corrélée positivement avec chacun des 4 tests.

Classe 2 : toute bande qui est corrélée négativement avec chacun des 4 tests.

Classe 3 : toute bande non corrélée avec au moins un des 4 tests ou non corrélés dans le même sens avec tous ces tests.

Nous donnons figure 3 la représentation des différentes bandes ainsi classées. Nous constatons dans l'ensemble une grande concordance des observations réalisées à partir des essais de 1971 et 1972.

Ces résultats montrent par conséquent qu'il existe une liaison (génétique ou fonctionnelle) entre la composition protéique des gliadines, observée par électrophorèse, et le comportement des variétés dans les tests d'appréciation de la valeur boulangère.

L'existence de corrélations entre le diagramme des gliadines et quelques tests d'appréciation de la valeur boulangère des variétés avait été révélée par SOZINOV *et al.* en 1974. Leurs analyses portaient sur les descendance F_6 et F_7 de deux croisements entre 4 parents très différents pour leur valeur boulangère. Nos observations portent sur des génotypes très diversifiés pour le caractère « valeur boulangère » et surtout non directement apparentés. Ces résultats ont donc une valeur plus générale que ceux présentés par SOZINOV en 1974. Ils laissent entrevoir une hypothèse, autre que génétique, pour expliquer ces corrélations entre les carac-

téristiques électrophorétiques des gliadines et le comportement des variétés de blé dans les tests indirects d'appréciation de la valeur boulangère.

L'étude de ces corrélations entre, d'une part les différentes bandes de gliadines et d'autre part les valeurs moyennes des tests technologiques mesurées sur

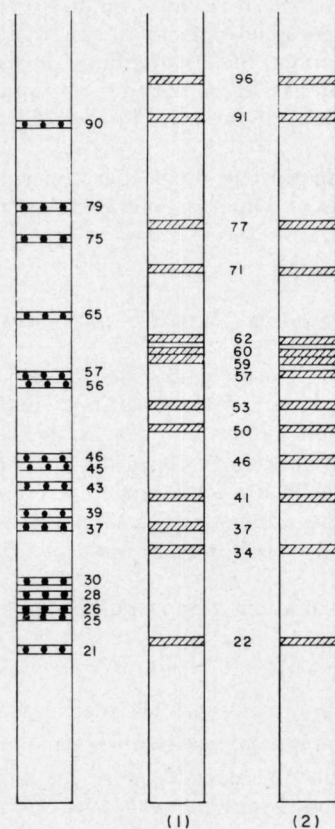
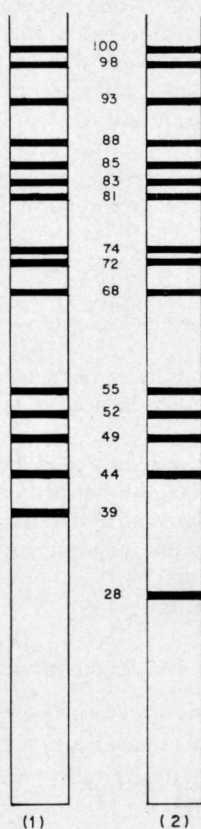


FIG. 3.

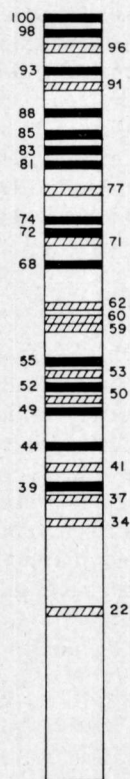


FIG. 4.

FIG. 3. — Représentation des différentes bandes de gliadines corrélées positivement —, négativement /// et non corrélées ■ avec les 4 tests de technologie effectués sur 37 et 30 génotypes cultivés en 1971 (1) et 1972 (2) respectivement

FIG. 4. — Diagramme électrophorétique théorique des gliadines regroupant l'ensemble des bandes corrélées de manière significative soit positivement — soit négativement /// avec la valeur boulangère d'un blé tendre.

6 à 8 lieux, nous a conduit à définir un diagramme type (fig. 4). Ce dernier comprend toutes les bandes qui sont apparues corrélées positivement ou négativement avec les tests I.S. et W. Ce diagramme type constitue donc une représentation de toutes les bandes qui devraient être présentes (corrélation positive) ou absentes (corrélation négative) pour qu'un génotype possède une force boulangère élevée.

4. — *Prédiction de la force boulangère à partir du diagramme des gliadines*
Régression multiple du W sur le polymorphisme des gliadines

A partir de 37 génotypes non directement apparentés nous avons tenté d'expliquer le caractère force (mesuré par le W) à partir du polymorphisme des gliadines. La variable expliquée étant le W (connu pour ces 37 génotypes sur deux années) et les variables explicatives étant les 43 bandes possibles de l'électrophorogramme des gliadines.

Nous donnons figure 5 l'évolution des pourcentages cumulés des sommes des carrés réduits au fur et à mesure de l'introduction de nouvelles variables (bandes).

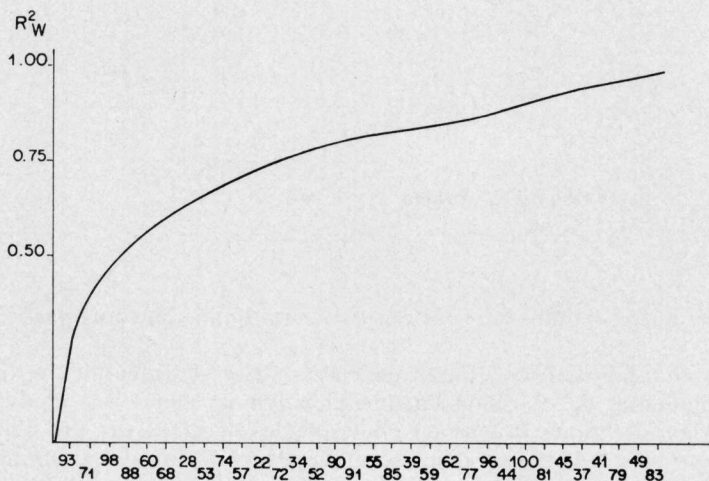


FIG. 5. — Évolution du coefficient de détermination (R^2W) du caractère force à partir du polymorphisme des gliadines.

C'est-à-dire l'évolution du coefficient de détermination du caractère force à partir du polymorphisme des gliadines.

Nous constatons que lorsque 5 bandes sont introduites (les bandes de mobilité 93, 71, 98, 88 et 60) le coefficient de corrélation multiple est de 0,735, soit un $R^2 = 0,540$. Lorsque 15 bandes sont considérées le coefficient de détermination R^2 est égal à 0,793.

Ceci montre qu'il est possible statistiquement d'obtenir une prédiction du caractère force par l'analyse de l'absence ou de la présence (en considérant la concentration relative) d'un certain nombre de bandes. Nous donnons au tableau 5 les coefficients de régression des 12 premières bandes explicatives. Pour 8 de ces bandes le seuil de signification est inférieur à 5 p. 100.

Nous constatons d'autre part que le signe du coefficient de régression pour chaque bande n'est pas dans tous les cas celui du coefficient de corrélation. Cela tient au fait que les bandes sont, à des degrés divers corrélées entre elles. L'étude du déterminisme génétique des gliadines (qui fera l'objet d'une publication ultérieure) révèle que les gènes gouvernant la synthèse de certaines bandes présentent des linkages entre eux. De ce fait, lorsqu'une bande est considérée dans la régres-

TABLEAU 5

Coefficients de regression des 12 premières bandes explicatives du caractère « force » mesuré par le W de l'alvéographe

Numéro variable	Bandes	Coef. regression
1	93	+ 22,32 (**)
2	71	— 8,92 (*)
3	98	— 19,97 (**)
4	88	+ 59,33 (**)
5	60	+ 7,02
6	68	+ 9,02 (**)
7	28	+ 3,84
8	53	— 8,94 (*)
9	74	+ 8,24 (*)
10	57	— 29,20
11	22	+ 14,03 (*)
12	72	+ 7,64
Ordonnée à l'origine		104,71

sion, la ou les autres bandes qui sont reliées à cette bande, ont une part explicative diminuée.

Cette prédiction réalisée à partir de l'observation des gliadines sur gel d'amidon doit augmenter en précision lorsque ce polymorphisme sera analysé sur gel de polyacrylamide. Nous savons en effet que les spectres sur gel d'amidon se prêtent moins bien à l'analyse densitométrique (coloration des protéines en surface) que les spectres sur gel de polyacrylamide (protéines marquées dans toute l'épaisseur du gel). De plus le gel de polyacrylamide offre une plus grande sensibilité de détection des bandes et une meilleure résolution des alpha et bêta gliadines.

Conclusion

Deux hypothèses peuvent être avancées pour tenter d'expliquer cette relation entre le polymorphisme des gliadines et la force boulangère. La première réside dans le fait que les gliadines seraient des marqueurs génétiques de la qualité boulangère. Les chromosomes des groupes 1 et 6 des génomes A, B et D responsables de la synthèse des gliadines (WRIGLEY et SHEPHERD, 1973) porteraient d'autres gènes intervenant directement sur l'expression de la force boulangère et avec lesquels les gènes de gliadines seraient liés à des degrés divers. Cependant plusieurs raisons nous incitent à penser que cette hypothèse n'est pas la seule possible.

D'autres chromosomes en effet sont connus pour intervenir dans l'expression de la qualité boulangère, il faudrait alors invoquer des régulations interchromosomiques pour que cette hypothèse subsiste. Rappelons par ailleurs que cette relation entre force boulangère et polymorphisme des gliadines n'a pas été établie à partir de génotypes directement apparentés.

La seconde hypothèse consiste à attribuer aux protéines constitutives du diagramme électrophorétique un rôle favorable (ou défavorable) aux processus physicochimiques de la panification. Ce rôle fonctionnel des gliadines apparaît plus vraisemblable que l'hypothèse précédente si l'on considère l'importance quantitative des gliadines dans les protéines du gluten et la part majeure de ces dernières dans l'expression de la force boulangère.

Quelle que soit l'hypothèse explicative et même si ces deux hypothèses existent dans la réalité, l'ensemble de nos résultats montrent que nous avons un outil capable de répondre à l'objectif de l'amélioration de la force du gluten du blé par sélection dans des populations génétiquement hétérogènes. Par la connaissance des bandes qui seraient qualitativement et quantitativement responsables de la qualité protéique du gluten d'une part, et la répartition des bandes ou groupes de bandes dans les descendance d'autre part, nous sommes en mesure d'identifier des génotypes qui avec une forte probabilité donneront un gluten de force. Cette prédiction peut aisément se concevoir à partir d'index applicables à tout ou partie du polymorphisme et pour lesquels des coefficients auraient été calculés sur un grand nombre de variétés à partir d'essais multilocaux et pluriannuels.

Cependant, compte tenu de l'étroitesse de la variabilité génétique du matériel végétal auquel on s'est adressé dans cette étude (blés adaptés aux conditions agroclimatiques françaises) des travaux ultérieurs sur génotypes étrangers devront nous permettre d'apprécier le degré de généralité de ces résultats.

Reçu pour publication en septembre 1979.

Summary

Electrophoretical characteristics of gliadins and baking value of bread wheat

Most breadmaking techniques at present used in France need relatively strong flours. Different factors modify the baking value of grain harvested by farmers, these are: genotype, environment and genotype $\times$ environment interaction. The genotypical baking value which must be taken into account in a breeding programme for varietal selection covers two ideas:

- a potential baking value that gives opportunity to classify genotypes,
- an extension of variation of baking value that a genotype can express in a given scale of environments. Usually, genotypical judgement for selection after hybridization is obtained with some direct or non direct technological tests. It seems that classical breeding methods for breadmaking quality are efficient for the selection of lines with normal (mean) baking value but not when a combination of strong gluten grain and good agronomical characteristics are required.

The fundamental question is : how can the potentialities of heterozygous genotypes be evaluated to give, in their progenies, lines with high intrinsic baking value?

We think usual technological tests are not suitable for the solving of this problem. Some biochemical components of grain, such as gliadins—with stable qualitative characteristics for a given genotype cultivated in any environment when they are studied by electrophoresis on starch gel— may play a fundamental role in the expression of baking value.

For this reason gliadins were studied with the view of obtaining new laboratory baking tests for genotype selection.

Our studies involved registered French wheat cultivars for which we know on one hand their technological characteristics measured by the following tests : ZELÉNY sedimentation index, CHOPIN alveograph, BRABENDER farinograph, C.N.E.R.N.A. official French breadmaking test (Centre National de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation) on samples coming from multilocation yield trials (6 to 8 locations), and, on the other hand electrophoregram gliadin patterns on starch gel (A. BOURDET, J. C. AUTRAN method). From correlation studies between relative concentrations of gliadin groups (α , β , γ and ω) and concentration

ratios of these components and baking tests, it appears that low molecular weight gliadins (α and β types) show a functional role in contrast to high molecular weight gliadins (γ and ω types) which may be less active.

An increase in the concentration of low molecular weight gliadins would lead to an improvement of baking quality.

Moreover our results show a tendency to a preferential accumulation of α and β gliadins with an increase of crude protein content.

A main component analysis with baking test values and gliadin group characteristics with their ratios gives us the opportunity to establish a factorial plan on which strongest gluten genotypes (high W) are localized where highly mobile gliadins are preponderant and conversely for weakest gluten genotypes (low W).

A correlation study between electrophoretic gliadin bands (relative concentration) and technological tests permitted us to classify bands into the following three classes:

Class 1: any band positively correlated with all tests

Class 2: any band negatively correlated with all tests

Class 3: any band not correlated with at least one test or not correlated in the same direction with all tests.

Thus there must be a relation between protein composition of gliadins revealed by electrophoresis and genotypical behavior in baking tests. From these results we established the theoretical gliadin diagram of a strong gluten wheat.

The multiple regression of CHOPIN alveograph W on gliadin polymorphism for 37 genotypes having no direct parentage gives us the opportunity to explain the W value (gluten strength) with the 43 possible bands of gliadin known by starch gel electrophoresis.

Whatever the nature of relations revealed (genetical or functional relations) it seems to us that with starch gel gliadin electrophoresis we have a powerful tool to improve efficiency in the selection of wheat genotypes with high breadmaking qualities.

Références bibliographiques

- AUTRAN J. C., BOURDET A., 1975. L'identification des variétés de blé: établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (3), 277-301.
- BENZECRI J. P. et al., 1973. *L'analyse des données* T 1 - 615 p. Ed. DUNOD, Paris.
- BOURDET A., 1964. Qualité protéique et force des blés. *Ann. Technol. agric.*, **13** (1), 45-66.
- BOURDET A., BERRIER R., AUTRAN J. C., 1973. Essai de cuisson miniaturisé pour apprécier la force des blés tendres. *Meun. Fr.*, 295, 11-14.
- BOURDET A., 1977. La biochimie du pain. *La Recherche*, **8** (74), 37-46.
- DAMIDAUX R., AUTRAN J. C., GRIGNAC P. et FEILLET P., 1978. Mise en évidence de relations applicables en sélection entre l'électrophorégramme des gliadines et les propriétés viscoélastiques du gluten de *Triticum durum*. *Desf. C.R. Acad. Sc. Paris*, **287**, série D, 701-704.
- FEILLET P., 1965. Contribution à l'étude des protéines de blé. Influence des facteurs génétiques, agronomiques et technologiques. *Ann. Technol. agric.*, **14** (numéro hors série), 94 p.
- FEILLET P., FEVRE E. et JEANJEAN M. F., 1976. Recherche d'un nouveau test d'appréciation de la force boulangère des blés tendres - résultats préliminaires. *Bull. Anc. Elèves ENSMIC*, n° 271, 22-25.
- FINNEY K. F., 1971. Fractionating and reconstituting techniques to relate functional (bread-making) to biochemical properties of wheat flour components. *Cereal Sci. Today*, **16**, 342-356.
- GODON B. et SARAZIN J., 1973. Signification d'un test de panification à échelle réduite. *Ann. Technol. agric.*, **22** (1), 21-23.
- KASARDA D. D., BERNARDIN J. E. and NIMMO C. C., 1976. Wheat proteins. in *Advances in Cereal Science and Technology*, Y. POMMERANZ ed. American Association of Cereal Chemists, St Paul, Min., 1976, p. 158.
- MAUZE E., RICHARD M. et SCOTTI G., 1972. *Guide pratique. Contrôle de la qualité des Blés*, Institut Technique des Céréales et des fourrages, 8 Av. du Président Wilson, Paris 16^e, 175 p.
- ORTH R. A. and BUSHUCK W., 1973. Studies of glutenin. III. Identification of subunits coded by the D genome and their relation to breadmaking quality. *Cereal Chem.*, **50**, 680-687.

- PRESTON K. R., WOODBURY N. and BENDELOW V., 1975. The effects of gliadin fractions of varying molecular weight on the mixing properties of a synthetic dough system. *Cereal Chem.*, **52**, 427-430.
- ROUSSET M. et BRANLARD G., 1977. L'électrophorèse des gliadines appliquée à la sélection du blé tendre de haute valeur en panification : travaux préliminaires. *Symposium franco-soviétique*, Odessa 1977.
- ROUSSET M., 1978. Le blé fourrager : création de variétés de blé à haute valeur nutritionnelle. *Bull. techn. Inform. Minist. Agric.*, 327, 77-91.
- SOZINOV A. A., POPERELA F. A., STACANOVA A. I., 1974. Use of electrophoresis of gliadin for selection of wheat by quality (en russe). *Vestnik Navki*, n° 7, 99-108.
- TRANCHEFORT J., 1974. *La régression*, ITCF, 8 av. Pt Wilson, Paris, 174 p.
- WRIGLEY C. W. and MOSS H. J., 1968. Selection for grain quality in wheat breeding. *Proc. Int. Wheat. Genet. Symp.*, **3** rd, 439-448.
- WRIGLEY C. W. and SHEPHERD K. W., 1973. Electrofocusing of grain proteins from wheat genotypes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **209**, 154-162.
- X, 1975. Variétés françaises de blé tendre. Valeurs boulangère et biscuitière. *La Meun. Fr.*, 325, avril 1975, 19-23. *La Meun. Fr.*, 316, mai 1975.
- ZELENY L., 1947. A simple sedimentation test for estimating the breadbaking and gluten qualities of wheat flour. *Cereal Chem.*, **24**, 465-475.
-

Recherches en vue d'améliorer le degré d'autogamie des cultivars de Tournesol (*Helianthus annuus* L.)

I. — L'autogamie et l'autocompatibilité pollinique

A. SEGALA, Martine SEGALA et G. PIQUEMAL

*Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques de Montpellier, I.N.R.A.,
École Nationale supérieure agronomique,
34060 Montpellier Cedex*

Résumé

Près de la moitié des fleurs d'un capitule de Tournesol ne donnent pas de fruit. Ce défaut de fécondité s'explique par l'influence de nombreux facteurs du milieu, mais la part qui revient à l'activité de la faune pollinisatrice est certainement prépondérante.

Le développement d'un bon degré d'autogamie devrait donc assurer des rendements sinon meilleurs du moins plus constants.

Nous avons étudié sur une série de lignées et d'hybrides simples des caractères pouvant contribuer à l'autogamie : autocompatibilité pollinique; abondance, qualité et degré d'agglutination du pollen.

Les variabilités et héritabilités de ces caractères ont été estimées ainsi que les regressions du « degré d'autogamie » sur ses composantes logiques.

Enfin nous avons observé et décrit quelques modalités du développement du stigmate susceptibles de favoriser l'autofécondation.

Introduction

La culture du Tournesol, reprise en France depuis une quinzaine d'années, n'occupe encore qu'une place modeste (50 000 ha, environ). Plus que le niveau des rendements, la raison en serait, de l'avis des cultivateurs, leur trop grande fluctuation dont les causes sont multiples.

C'est d'abord la difficulté d'obtenir le peuplement souhaité car la germination puis la levée se font mal : en semis précoce, la température du sol trop basse retarde la levée exposant les graines aux nombreux prédateurs. D'autre fois, c'est la trop grande profondeur d'ensemencement imposée par l'obligation d'utiliser un sol motteux et sec. On pourra craindre aussi l'asphyxie lorsque les pluies

abondantes ont lieu après le semis sur un sol se drainant mal. Surviennent enfin au cours de la croissance et jusqu'à la récolte les nombreuses maladies qui par ordre de gravité sont en France : le Mildiou, le Botrytis, le Sclerotinia et le Macrophomina.

C'est pourquoi les programmes d'amélioration variétale du Tournesol en France ont prévu d'incorporer aux lignées le maximum de caractères permettant aux hybrides de surmonter les obstacles s'opposant à l'obtention à coup sûr de rendements satisfaisants.

Parfois, cependant malgré une installation convenable de la culture, en l'absence de maladie, et en dépit d'une bonne vigueur, les récoltes restent inférieures aux prévisions. On constate en ces cas là que beaucoup de grains sont vides (fréquemment signalé en 1977) et que la proportion des fleurs fructifères est très inférieure à 50 p. 100.

Ce fait, dans beaucoup de pays, est généralement attribué à l'activité insuffisante de la faune pollinisatrice. On y remédie habituellement en installant des ruches dans les cultures.

Le Tournesol, en effet, qu'il s'agisse de ses formes sauvages ou de ses cultivars, est une espèce allogame : à l'autoincompatibilité pollinique s'ajoute le fait que les grains de pollen, après leur émission, demeurent agglutinés en amas compacts. Une bonne pollinisation nécessite l'intervention d'insectes pollinisateurs dont le rôle est double :

- transporter le pollen pour permettre la fécondation des plantes malgré leur autoincompatibilité,
- mais aussi, sur un même capitule autocompatible, disperser le pollen et le mettre en contact avec la face supérieure des stigmates.

Nous avons montré, cependant, dans une communication antérieure (PIQUEMAL, 1976) que certains hybrides présentaient un degré d'autogamie élevé. Ils peuvent fournir en sacs aérés, à l'abri des abeilles, presque autant de grains que des pieds témoins en pollinisation libre.

Ce serait là, pour ces hybrides, un avantage qui devrait se traduire par une plus grande régularité de production, et qui mériterait d'être conféré aux variétés à venir.

Compte-tenu des considérations antérieures, un Tournesol parfaitement autogame, au niveau du capitule, devrait remplir deux ensembles de conditions :

- être autocompatible;
- posséder un pollen de bonne qualité, facilement dispersé sur place pour rencontrer les stigmates voisins au moment le plus favorable à la fécondation.

Ces deux ensembles de conditions ont été examinés et nous avons cherché ensuite à vérifier leur relation avec une bonne autogamie.

L'autocompatibilité pollinique du Tournesol : variation et hérédité

Aucune des espèces sauvages du genre *Helianthus*, et notamment des *H. annuus* de provenances très diverses qu'il nous a été donné de cultiver n'a pu être reproduite par voie sexuée sans le recours aux croisements : nous avons affaire

à une *auto-incompatibilité pollinique sporophytique*, fréquente dans la famille des *Compositae*.

Les gènes d'autoincompatibilité, formeraient selon HUGUES et BABCOK, cités par HESLOP-HARRISON (1975) une série allélique « S » à un seul locus. Est-ce à dire que les gènes d'autoincompatibilité seraient tous également pénétrants et qu'ils ne pourraient être modifiés dans leurs effets par d'autres gènes mineurs? L'autoincompatibilité devrait-elle être absolue comme le voudraient certains?

Les faits nous prouvent qu'il n'en est rien. Les petits capitules des espèces sauvages ramifiés ont à souffrir d'un climat très dur lorsqu'on les place pour autofécondation dans des sacs de volume réduit, de plus ils ne bénéficient généralement pas d'une action mécanique amenant le pollen sur le stigmate. Il ne faut pas s'attendre dans ces conditions à récolter plus d'une graine pour 10^4 fleurs. Les larges capitules des cultivars d'*H. annuus*, au contraire, placés dans de grands sacs à autofécondation fournissent assez souvent quelques dizaines d'akènes et bien davantage si l'on prend soin de transporter le pollen sur les stigmates. La quantité de semence ainsi obtenue varie grandement d'un individu à l'autre de même qu'entre les lignées venues d'autofécondations répétées.

Certaines de celles-ci évoluent vers l'extinction et d'autres vers une très grande autofertilité. Il existe donc bien des *degrés d'autocompatibilité* propres à chaque lignée et aux hybrides qui en dérivent; c'est ce qu'ont pu observer tous les sélectionneurs de Tournesol et ce qu'a étudié en particulier SCHUSTER (1970).

Dans son ouvrage sur le Tournesol, VRANCEANU (1974), rapporte que les recherches effectuées à la Station de l'I.C.C.P.T. à Fundulea (Roumanie) ont mis en évidence la complexité et la diversité de l'autoincompatibilité chez le Tournesol, laissant entrevoir l'existence de plusieurs systèmes génétiques avec action sporophytique et gamétophytique. L'inhibition du pollen est très affectée par les conditions climatiques durant la floraison, et spécialement par la température.

La variation du caractère d'autocompatibilité et son héritabilité ont été estimées à partir de 41 lignées, 38 hybrides et 3 populations (« Issanka », « Pere-dovik », et « Balkan ») cultivés sur le domaine de Lavalette (Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier) durant l'été de 1977.

Matériel et méthode

Les lignées et variétés ont été cultivées chacune sur un rang de 20 plantes à l'espacement de 0,30 m $\times$ 0,70 m. A partir de ces 20 plantes on s'est efforcé de constituer 3 lots comparables de 4 plantes désignés par les lettres T, A et B correspondant aux traitements ci-après :

- T, plantes témoins pollinisées librement;
- A, plantes soumises à une autofécondation assistée;
- B, plantes soumises à une autofécondation non assistée.

Les capitules des plantes A et B ont été enfermés, avant leur floraison dans des sacs de papier sulfurisé. Ces sacs sont restés en l'état jusqu'à la récolte, pour les plantes B. Ils ont par contre été ouverts chaque jour pendant la floraison des plantes A afin d'effectuer manuellement le transport du pollen sur les stigmates à l'aide d'une portion de limbe prélevée à l'intérieur du sac.

Les capitules des plantes T ont été ensachés sitôt la floraison terminée.

Le nombre de fleurs par capitule

A été estimé par le comptage des « rayons » et des fleurs sur 4 de ces « rayons » disposés perpendiculairement (PIQUEMAL, 1968). Ce travail s'effectue le plus commodément 3 ou 4 jours après la fin de la floraison du capitule.

Le nombre de grains pleins

A la récolte a été obtenu par comptage direct après l'égrenage des capitules secs suivi d'une ventilation convenable.

Ces comptages nous ont fourni pour chaque lignée, hybride ou cultivar, et pour les 3 traitements, T, A et B les nombres moyens de graines pour 100 fleurs, d'après des échantillons de 4 plantes.

TABLEAU I

Résultats des autofécondations assistées (A), ou non assistées (B), et des pollinisations libres (T) chez 39 lignées

(T, A, B : nombre moyen de graines pour 100 fleurs

$$\frac{T}{A} \times 100 = \text{degré d'autocompatibilité})$$

N°	T	A	B	$\frac{A}{T} \cdot 100$	N°	T	A	B	$\frac{A}{T} \cdot 100$	N°	T	A	B	$\frac{A}{T} \cdot 100$
1	44	16	3	35	14	65	3	< 1	4	29	35	35	22	100
2	52	31	30	60	15	43	26	14	60	30	30	15	11	43
3	19	12	11	62	17	67	18	7	27	31	55	23	9	42
4	58	18	17	30	18	52	16	12	31	32	41	25	6	60
5	34	23	18	68	19	48	23	14	48	33	37	35	24	64
6	62	47	16	75	20	44	35	18	79	34	29	17	11	59
7	64	38	9	59	21	35	33	17	93	35	44	42	20	96
8	36	19	3	53	22	51	46	34	90	36	36	15	14	41
9	51	22	6	43	23	45	42	23	92	37	41	36	25	89
10	45	13	7	29	25	49	17	7	33	38	51	28	16	54
11	45	39	10	85	26	30	29	22	96	39	56	32	7	58
12	34	6	2	17	27	44	4	3	9	40	43	20	16	47
13	52	46	32	98	28	41	22	15	54	41	40	12	8	31

Ces données sont réunies aux tableaux 1 et 2 qui comporte une colonne $\frac{A}{T} \times 100$. Ce rapport entre la fertilité des capitules en autofécondation assistée et celle des capitules en fécondation libre sera admis comme *indice du degré d'autocompatibilité*.

TABLEAU 2

Résultats des autofécondations assistées (A) ou non assistées (B),
et des pollinisations libres (T) chez 36 hybrides et 3 populations

(T, A, B = nombre moyen de graines pour 100 fleurs

$\frac{T}{A} \times 100 = \text{degré d'autocompatibilité}$)

N°	T	A	B	$\frac{A}{T} \times 100$	N°	T	A	B	$\frac{A}{T} \times 100$	N°	T	A	B	$\frac{A}{T} \times 100$
42	56	10	3	18	55	49	44	12	89	68	55	53	15	97
43	52	24	4	47	56	54	36	6	67	69	60	36	5	59
44	58	21	2	36	57	53	44	33	84	70	48	41	32	87
45	47	15	<1	31	58	47	28	9	59	71	60	40	20	67
46	62	44	21	71	59	35	25	18	72	72	40	38	29	94
47	64	41	22	64	60	43	33	11	79	73	48	47	46	98
48	64	37	30	59	61	66	34	4	52	74	50	41	28	83
49	48	14	2	29	62	72	33	19	46	75	55	38	20	69
50	53	41	36	77	63	63	29	8	46	76	70	41	20	58
51	45	22	2	49	64	52	49	13	95	77	69	53	16	77
52	61	46	8	75	65	68	46	10	67	78	67	55	3	82
53	46	44	11	95	66	31	23	6	76	79	67	65	30	97
54	53	51	19	96	67	57	37	15	66	80	62	45	30	73

N° 44 : variété « Peredovik ».

N° 45 : variété « Balkan ».

N° 67 : variété « Issanka ».

Résultats

Au tableau 3 sont indiquées les fertilités moyennes correspondant aux 3 traitements. On voit nettement que l'autofécondation assistée (A) fournit une récolte à peu près double de celle obtenue par autofécondation stricte (B).

En pollinisation naturelle 50 p. 100 des fleurs seulement ont donné un fruit.

TABLEAU 3

Fertilités moyennes des trois traitements T, A, B
(Nombre d'akènes pour 100 fleurs)

	T	A	B	A/T
Lignées	44,7	24,9	13,7	55,7
Hybrides et cultivars	55,0	37,8	15,8	68,7

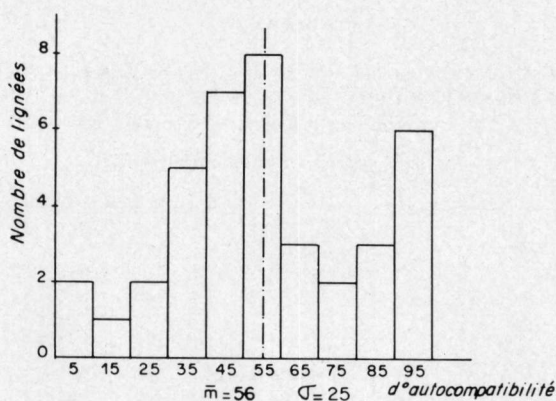


FIG. 1. — Classement des degrés d'autocompatibilité des lignées.

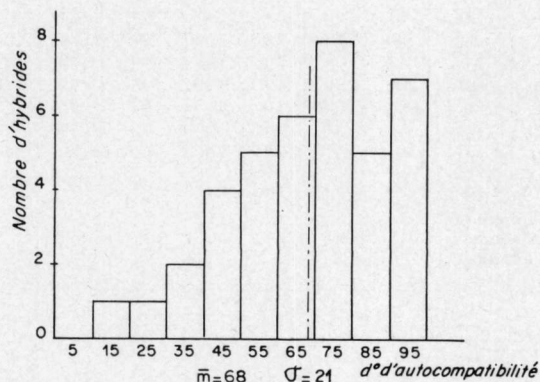


FIG. 2. — Classement des degrés d'autocompatibilité des hybrides.

Les degrés d'autocompatibilité des lignées et des hybrides sont distribués comme le montrent les histogrammes (fig. 1 et 2) autour des valeurs moyennes 56 p. 100 et 68 p. 100. La différence entre ces deux moyennes est faible (12 p. 100), mais significative.

Si notre population d'hybrides avait été le résultat de tous les croisements possibles entre les lignées étudiées, compte-tenu du caractère dominant des gènes d'autoincompatibilité, le degré moyen d'autocompatibilité de la population d'hybrides aurait été inférieur à celui de la population de lignées.

L'héritabilité du degré d'autocompatibilité peut être appréciée d'après le coefficient de régression des hybrides sur la moyenne de leurs deux parents. La valeur qui a été trouvée, n'est pas significativement différente de zéro : $b = 0,26$.

De nombreux auteurs, cependant, ont souligné la bonne héritabilité du caractère d'autocompatibilité : PUTT (1941), SCHUSTER (1951) et HABURA (1957).

La variation du degré d'autogamie et sa relation avec l'autocompatibilité

D'après les résultats des traitements, B et T, précédemment décrits, nous avons calculé un *degré d'autogamie*, $\frac{B}{T} \times 100$, qui est le rapport de la récolte succédant à une autofécondation stricte, sans aucune aide, à la récolte des capitules pollinisés par les insectes.

La distribution des degrés d'autogamie est indiquée par les histogrammes des figures 3 et 4. Les valeurs moyennes (33 p. 100 pour les lignées et 29 p. 100 pour les hybrides) sont assez voisines. Dans les deux cas, les écarts types (21 p. 100 et 23 p. 100, respectivement), correspondent à des coefficients de variation très élevés (60 à 77 p. 100 des moyennes),

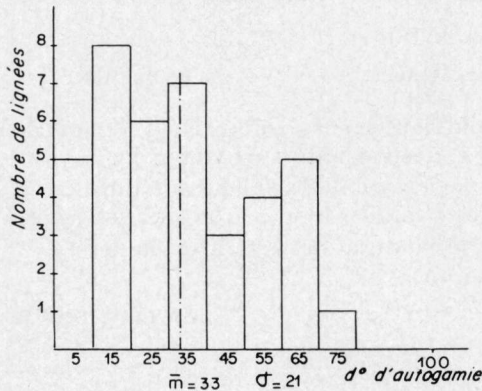


FIG. 3. — Classement des degrés d'autogamie des lignées.

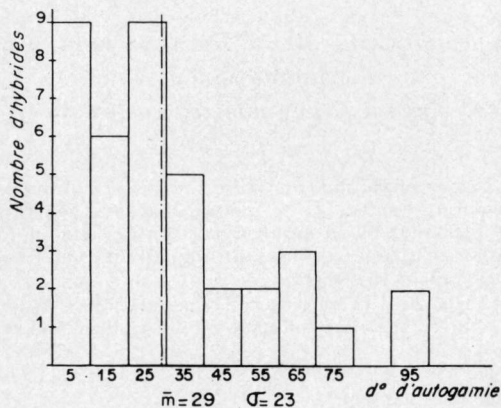


FIG. 4. — Classement des degrés d'autogamie des hybrides.

Deux hybrides ont été remarqués par leurs hauts degrés d'autogamie supérieurs à 80 p. 100 :

N° 73 : HA 124 $\times$ RHA 265 (lignées des E.U.) : $\frac{B}{T} \times 100 = 97$ p. 100.

N° 72 : F.S. 25 $\times$ Sko. 6.2. (lignées fixées à Montpellier) : $\frac{B}{T} \times 100 = 74$ p. 100.

L'héritabilité du degré d'autogamie, d'après la régression sur la moyenne des lignées parentales, a été établie à :

$b = 0,66$ Valeur hautement significative ($t = 4$).

La large variation de ce caractère et sa bonne héritabilité confirme la possibilité d'une sélection efficace de lignées plus autogames. D'autre part la comparaison de la variation des hybrides et de la variation des lignées semble indiquer l'absence de dominance : il faudra, dans les hybrides, associer des lignées autogames.

Comme on devrait s'y attendre, le degré d'autogamie dépend du degré d'autocompatibilité. Les coefficients de regressions qui ont été calculés ont été :

$b = 0,70$ pour les hybrides;

$b = 0,60$ pour les lignées.

Ces coefficients sont hautement significatifs ($p = 0,01$) de même que les coefficients de corrélation correspondants : 0,64 et 0,77.

D'après R^2 , l'autocompatibilité expliquerait donc 41 p. 100 de la variation de l'autogamie chez les hybrides et 59 p. 100 chez les lignées.

Une bonne part de la variation reste à expliquer.

Reçu pour publication en octobre 1979.

Summary

Research for improving natural selfing in sunflower cultivars

(*Helianthus annuus L.*)

I. Natural selfing and self compatibility

In spite of a satisfactory establishment and in the absence of diseases, the sunflower crops sometimes gives disappointing results. It is observed that less than 50 p. 100 of the florets set seed, which is generally explained by an unsufficiently active pollinating fauna. To remedy this, highly self fertile cultivars must be bred, with self compatibility and a lot of pollen of good quality which is easily dispersed to the stigma.

In our experiments, 39 lines, 38 hybrids and 3 populations ("Issanka", "Peredovik", and "Balkan") received the three following pollination treatments (4 plants for each):

A = aided self pollination under paper bag;

B = self pollination without aid;

T = natural open pollination by insects and foreign pollen.

The results enable us to classify the material after calculating the following:

$$\text{degree of compatibility} = \frac{A}{T} \times 100$$

$$\text{degree of self pollination} = \frac{B}{T} \times 100$$

$$\text{pollen mobility index} \times \frac{B}{A} \times 100$$

1. — The pollinic self compatibility of sunflower: variability and heritability

The self incompatibility in sunflowers is sporophytic and mainly monofactorial. However it is not always complete in the cultivated species and degrees of self compatibility calculated as above are given in table 2, for the hybrids and table 1, for the inbred lines (see their distributions, fig. 1 and 2).

50 p. 100 of the control-flowers, T, gives achenes, but only 25 p. 100 and 15 p. 100 for A and B, respectively (table 3).

The regression for the degree of self compatibility of the hybrids on the mean degree of their parents is: $b = 0,26$ (not significant, although many authors have indicated a good heritability of this character).

2. — The self fertility of the head and the self compatibility

The degree of self fertility, $\frac{B}{T} \times 100$, is on average, 32,7 p. 100 for the lines and 29,4 p. 100 for the hybrids (fig. 3 and 4).

The heritability is $b = 0,66$ (H.S.).

This, as well as the large variation of the degree of self fertility, shows that breeding for self fertile lines would be successful.

As expected the self fertility of the head depends on the self compatibility: $b_L = 0,60$ and $b_H = 0,70$ (for lines and hybrids respectively)

$$r_L = 0,77 \text{ and } r_H = 0,64 \text{ (H.S.)}$$

After R^2 it appears that the self compatibility explains 59 p. 100 of the variation for the lines and 41 p. 100 for the hybrids.

Références bibliographiques

- HABURA E. Ch., 1957. Parasterilität bei Sonnenblumen. *Z. Pflanzenzüchtung*, **37** (3), 280-298.
- HESLOP-HARRISON J., 1975. Incompatibility and the pollen stigma interaction. *Ann. Rev., Plant Physiol.*, **26**, 403-425.
- PIQUEMAL G., 1968. Recherches sur la structure du rendement en grains du Tournesol (*Helianthus annuus* L.): variations, corrélations et héritabilités de ses composantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **18**, (4), 423-446.
- PIQUEMAL G., 1976. Observations sur la fécondation des fleurs de Tournesol. 7^e Conf. Intern. sur le Tournesol, Krasnodar, U.R.S.S.
- PUTT E. D., 1941. Investigations of breeding technique for the Sunflowers. *Sci. Agric.*, Ottawa, **21**, 689-702.
- SCHUSTER W., 1951. Untersuchungen über die Blüh- und Befruchtungsverhältnisse der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) *Diss. Giessen*.
- SCHUSTER W., 1970. Die Fertilität nach erzwungener Selbstung bei Sonnenblumen. *Angew. Botanik*, **44**, 87-102.
- VRANCEANU A. V., 1974. *Floarea-Soarelui*. Editura Academiei Republicii Socialiste Romania.

Recherches en vue d'améliorer le degré d'autogamie des cultivars de Tournesol (*Helianthus annuus* L.)

II. — Étude de quelques caractères facilitant l'accès du pollen aux papilles du stigmate

A. SEGALA, Martine SEGALA et G. PIQUEMAL

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques de Montpellier, I.N.R.A.,
34060 Montpellier Cedex

Résumé

L'autocompatibilité pollinique explique 50 p. 100 de la variance du degré d'autogamie (SEGALA *et al.*, 1980). Le reste de la variation correspond à la probabilité pour un stigmate de recevoir spontanément du pollen produit à proximité. Cette probabilité pourrait varier selon les caractères du pollen, dont plusieurs sont étudiés ici et aussi selon certains modes de développement de la fleur que nous avons observés.

Aucune relation n'a pu être établie entre le degré d'autogamie et chacun des caractères pris isolément. Leur addition reste néanmoins à réaliser.

Introduction

Dans la première partie de cette étude qui a porté sur 39 lignées, 38 hybrides et 3 populations, nous avons défini un *degré d'autocompatibilité pollinique* et un *degré d'autogamie*.

Après avoir estimé la variabilité et l'héritabilité de ces deux caractères, nous avons montré leur nette relation de dépendance : la variation de l'autocompatibilité pollinique expliquerait environ 50 p. 100 de la variation du degré d'autogamie. D'autres facteurs d'une bonne autogamie restent à rechercher qui pourraient comprendre notamment un ensemble de caractères contribuant à accroître la probabilité d'accès d'un grain de pollen bien constitué sur la face supérieure réceptive d'un stigmate voisin du point où l'anthèse a eu lieu.

De tels caractères seraient, par exemple :

- la *quantité* de pollen de *bonne qualité* émis par une fleur,
- la *mobilité* de ce pollen : dimension des grains, agglutination réduite, etc...

Enfin des modes particuliers de développement des stigmates et des étamines existent peut-être, qui favoriseraient l'autogamie.

La productivité en pollen par fleur

Méthode

La productivité en pollen du Tournesol a été estimée par OBOLENSKY (1958) en broyant des fleurs dans de l'eau additionnée d'un produit tensioactif puis en montant sur lame 3 gouttes de cette suspension. Notre méthode plus précise a été inspirée de celle pratiquée par les chercheurs du Laboratoire de Palynologie du C.N.R.S. à Montpellier (*).

Les étamines provenant de 5 fleurs ont été dilacérées et broyées après un séjour dans l'alcool. Le broyat a été ensuite lavé sur un tamis à mailles de $50\ \mu$ ne laissant passer que les grains de pollen. Enfin le filtrat a été centrifugé à 2 000 tours/mn et pendant 5 minutes; puis le culot, d'un volume de 12 à 15 microlitres, a été repris et dispersé dans 1,5 ml de glycérine.

La suspension homogénéisée a été montée sous lamelle sur un hématimètre retenant un volume connu. Le microscope parcourant deux fois la longueur de la lamelle à mi distance des bords et de la ligne médiane, le volume exploré était de $2,30\ \text{mm}^3$. Le nombre de grains de pollen ainsi comptés nous servira d'indice de productivité en pollen. Il suffit de multiplier cet indice par le coefficient 26 pour avoir une indication du nombre de grains de pollen par anthère (**).

Résultats

a) Évolution de la production de pollen au cours de la floraison

Cette étude a été réalisée en serre durant le mois de mai afin de préciser le mode d'échantillonnage des étamines destinées à l'estimation de la productivité en pollen.

La production de pollen a été observée d'après 5 fleurs prélevées périodiquement sur 5 capitules des 3 cultivars, « Karlic », « Issanka » et « Avanguard ». Les prélèvements correspondant à 8 zones concentriques des capitules, nous avons analysé la variance des 120 données (8 zones $\times$ 3 cultivars $\times$ 5 répétitions) :

(*) C.N.R.S., Centre National de la Recherche Scientifique; Directeur de Laboratoire de Palynologie, Madame Dr. VAN CAMPO que nous remercions ici, ainsi que ses collaborateurs pour leurs précieux conseils.

(**) L'indice 26 a été établi d'après le volume de suspension exploré par le microscope ($2,30\ \text{mm}^3$) et le volume dans lequel a été dispersé le pollen de 25 étamines ($1\ 500\ \text{mm}^3$) :
$$\frac{1\ 500}{2,30 \times 25}.$$

la part de variation qui revient aux zones du capitule est hautement significative ($F = 2,82$ pour $p = 0,01$).

La figure 1, illustre cette variation, constatée en serre, pour des cultivars de précocités différentes et qui n'ont pas fleuri dans la même période : les courbes sont de même allure.

Les fleurs de la partie centrale (zones 6 à 8) sont plus riches en pollen, mais elles sont en minorité. Les fleurs de la zone moyenne, 4, sont plus représentatives du capitule : elles fourniront les échantillons destinés à établir l'indice de productivité des lignées et des hybrides.

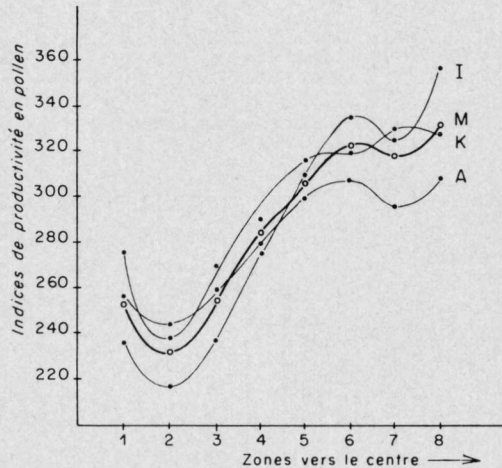


FIG. 1. — Variation des indices de productivité en pollen des fleurs en différentes zones du capitule, chez trois cultivars (I. = Issanka, K. = Karlich, A. = Avanguard, M. = moyenne).

b) Variation et héritabilité de la productivité en pollen

L'indice de productivité en pollen a été estimé, comme il vient d'être dit, pour chacune des lignées et chacun des hybrides cultivés en 1977 au domaine de Lavalette afin d'en observer les degrés d'autogamie et d'autocompatibilité (SEGALA *et al.*, 1980).

Les distributions des lignées et des hybrides sont présentées aux figures 2 et 3. Dans l'ensemble les hybrides sont plus productifs en pollen que les lignées; la différence entre les indices moyens est significative au seuil $p = 0,05$.

Les deux distributions semblent bimodales avec une variation assez large, tant pour les hybrides que pour les lignées (C.V. de 13 p. 100 et 19 p. 100 respectivement). Deux de ces dernières (nos 17 et 40) se distinguent par l'abondance de leur pollen, leur indice de 440 correspondant à 11 440 grains par anthère, contre 8 000 grains, en moyenne pour l'ensemble des génotypes.

Nous avons enregistré, pour les lignées seulement, un coefficient de corrélation faible, mais significatif, $r = + 0,324$ associant la productivité en pollen par fleur et la durée de végétation du semis à la floraison. Ceci pourrait résulter de conditions climatiques différentes durant la formation du pollen.

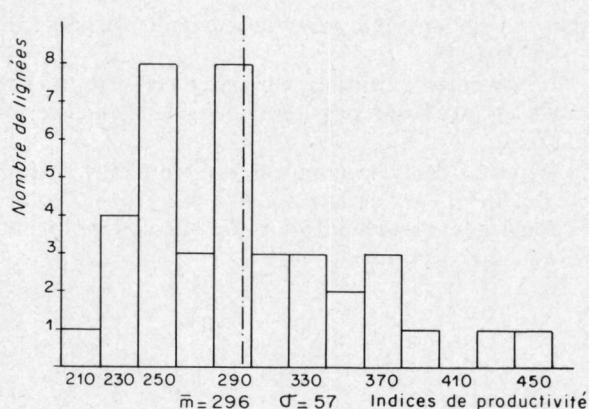


FIG. 2. — Distribution des indices de productivité en pollen de 39 lignées.

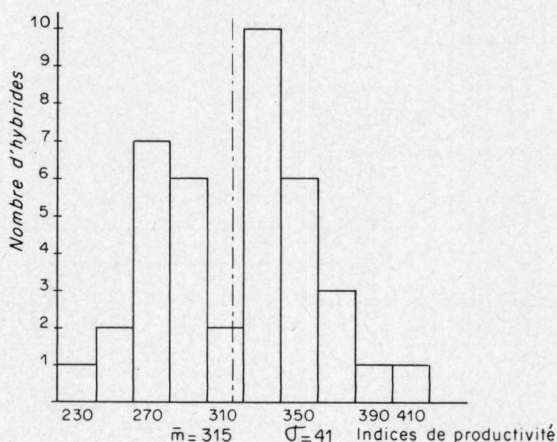


FIG. 3. — Distribution des indices de productivité en pollen de 38 hybrides et 3 populations.

L'héritabilité de la productivité en pollen d'après la régression des indices des hybrides sur la moyenne des lignées parentales a été estimée à :

$b = 0,59$, coefficient hautement significatif ($t = 3,57$).

La productivité en pollen des hybrides dépend bien de celle de leurs parents, mais elle n'est pas supérieure à la productivité moyenne de ceux-ci : le caractère ne paraît pas bénéficier d'un effet d'hétérosis.

La qualité du pollen : pouvoir germinatif et test par coloration

Méthodes

Le pouvoir germinatif du pollen a été observé en ensemençant un milieu de germination coulé sur lames de verre placées dans des boîtes de Pétri avec 5 gouttes d'eau et conservées 24 h à l'obscurité et à 26 °C.

Il est très difficile chez les Compositae d'obtenir une nette élongation des tubes polliniques qui ont tendance, sur milieux artificiels, à éclater précocement. DEXHEIMER (1970) n'a pu résoudre ce problème avec des milieux pourtant très complexes. BREWBACKER et KWACK (1963) ont montré cependant que le calcium et le bore étaient indispensables. A la suite de plusieurs essais nous avons finalement adopté le milieu proposé par BOBECK et KOVACIK (1972) et composé de :

saccharose 35 p. 100;
gélose 2 p. 100;
ac. borique 0,01 p. 100;
chlorure Ca 0,01 p. 100.

Sur ce milieu, 50 p. 100 des tubes polliniques parviennent à une longueur supérieure au diamètre du grain de pollen, permettant d'estimer correctement un taux de germination.

L'observation de la germination du pollen sur un même capitule, de jour en jour, a montré une certaine fluctuation; par temps frais, le pollen contenu dans les anthères bien dégagées de la fleur peut demeurer immature. Nous avons donc prélevé les étamines juste avant l'anthèse et aussi le lendemain : des deux résultats ainsi obtenus nous avons retenu le plus élevé. Chaque donnée est la moyenne des comptages effectués sur 4 capitules au quatrième jour de sa floraison.

La vitalité du pollen serait la mieux appréciée par un test au nitrobleu tetrazolium qui met en évidence la respiration des grains de pollen (HAUSER et MORRISON, 1964). Ce test nécessite une longue préparation du réactif à renouveler chaque jour, c'est pourquoi nous avons préféré adopter un test par coloration au bleu d'aniline : les grains de pollen sont mis à séjourner à l'obscurité et pendant 24 h à 22 °C dans une goutte de bleu d'aniline (solution composée de phénol, d'acide lactique, de glycérine et d'une solution aqueuse à 1 p. 100 d'aniline, selon HAUSER et MORRISON, 1964).

Le bleu d'aniline colore la callose de l'intine (JOHANSEN, 1940, cité par les auteurs précédents) : c'est une indication de la bonne formation de la paroi.

Sur *Helianthus annuus* L., HAUSER et MORRISON ont montré qu'à des taux de coloration de 99 à 97 p. 100 par l'aniline, il correspondait des taux de 87 à 86 p. 100 par le nitrobleu tetrazolium : 10 à 15 p. 100 des grains colorés à l'aniline ne pourraient donc germer.

Selon ces auteurs, l'écart entre les deux tests est particulièrement accentué chez *Helianthus annuus* L. comparativement à ce qu'ils ont observé sur d'autres espèces.

Résultats

Toutes les lignées à l'étude ont un pollen qui prend bien la coloration au bleu d'aniline (89 p. 100 à 100 p. 100 des grains). Le pollen des hybrides se colore encore mieux (moyenne 97,5 p. 100). Le test à l'aniline n'a donc permis aucune différenciation dans notre matériel. Nous espérons en faire un indicateur simple et précis de la qualité du pollen, or les coefficients de corrélation liant les résultats de ce test aux taux de germination du pollen sont très petits et non significatifs ($r = + 0,06$ pour les hybrides et $r = + 0,29$ pour les lignées).

Le pouvoir germinatif du pollen des hybrides a été en moyenne de 26,5 p. 100. Il est supérieur à celui des lignées dont la moyenne a été de 19,8 p. 100 (différence significative au seuil $p = 0,05$).

Les coefficients de variation correspondants sont de 55 p. 100 et 56 p. 100 : la variation est très large, mais cela tient tout autant à la qualité du test qu'aux différences génotypiques.

Nous avons noté cependant une relation significative entre les taux de germination des hybrides et la moyenne des lignées parentales : $b = 0,40$.

Degré d'agglutination et mobilité du pollen

A la floraison, des masses de pollen émises par les étamines peuvent en tombant d'une hauteur de 10 cm, par exemple, donner des amas plus petits mais constitués de plus d'une cinquantaine de grains agglutinés. Observés au binoculaire ceux-ci forment des chaînons liés à leur tour en plusieurs points (fig. 4). Il n'était pas possible de définir un degré d'agglutination d'après la distribution du nombre de grains par amas. La cause de l'agglutination est à rechercher dans la structure de l'exine et surtout dans les substances qui la recouvrent en une masse jaunâtre que les palynologistes désignent parfois sous le terme de *pollenkitt*. Cette substance caractérise les espèces entomophiles, et elle est généralement absente chez les espèces anémophiles. Cette matière en partie huileuse et chargée de caroténoïdes, outre sa fonction agglutinante, contribue à retarder la dessiccation du pollen et à attirer les insectes par sa couleur et son odeur (HESLOP-HARRISON, 1968).

Observés frais, les grains de pollen ont une forme ovale. Montés dans la glycérine, ils conservent cette forme et l'on peut voir les masses jaunes de *pollenkitt* à leur surface (fig. 4). Dans l'eau ou dans l'alcool les grains de pollen s'arrondissent et sont lavés de leur gangue. La densité optique de la solution jaune ainsi obtenue ne nous a pas semblé devoir être utilisée comme mesure de la quantité de *pollenkitt* à associer au degré d'agglutination. Il existe en effet des différences dans l'intensité de coloration du pollen allant du jaune foncé au blanc. Nous n'avons pu que classer notre matériel végétal d'après une simple notation visuelle, à la suite d'observations répétées sur tous les individus de chaque lignée ou hybride en cours de floraison. Une seule observation serait trop imprécise : l'hygrométrie, notamment, en modifiant la charge électrique, influe sur la séparation des amas de pollen (STANLEY et LINSKENS, 1974).

Le classement que nous avons adopté a été le suivant :

Classe 1 (forte agglutination) : le pollen jaillit des anthères en une pâte qui adhère à la face inférieure des lobes stigmatiques ou retombe en l'état sur les pétales des fleurs ligulées.

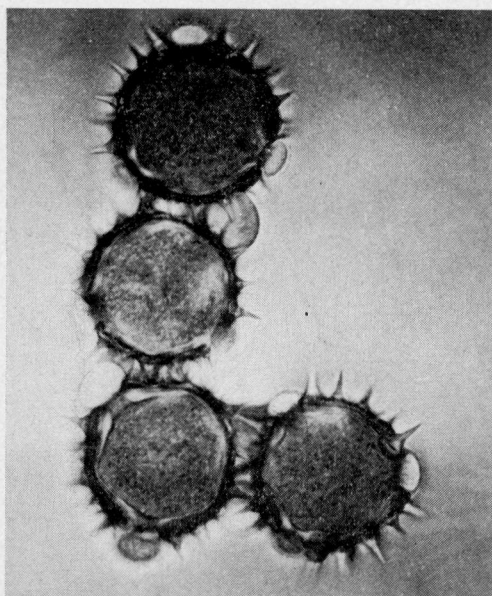


FIG. 4. — *Quelques grains de pollen enchaînés* (Photo A. SEGALA).

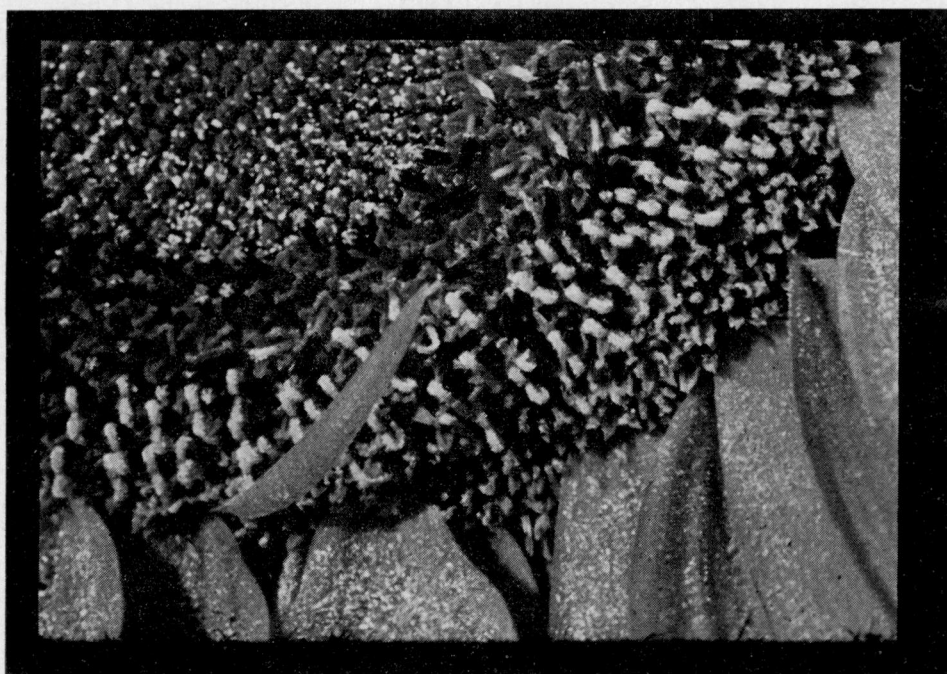


FIG. 5. — *Pollen peu agglutiné, finement dispersé sur les pétales* (Photo A. SEGALA).

Classe 2 (agglutination moyenne) : le pollen se présente en un grand nombre de paillettes.

Classe 3 (agglutination faible) : on ne rencontre que de petits amas de pollen dispersés sur toute la surface du capitule (fig. 5).

D'après ce classement, le matériel végétal était ainsi distribué :

Degré d'agglutination	Nombre de lignées	Nombre d'hybrides
Classe 1	7	11
Classe 2	27	28
Classe 3	5	0

Nous voyons que la classe 3 est peu garnie. Le degré d'agglutination varie très peu, mais quelques lignées et quelques hybrides ont un pollen nettement plus compact (classe 1).

L'ornementation des grains de pollen a été observée et nous nous sommes efforcés de mesurer la longueur des épines d'après 10 grains de taille moyenne. Ces longueurs étaient comprises entre 2 et 3 μ . Cependant une lignée (n° 12) a été remarquée par ses épines courtes (1,5 μ) avec des pointes émoussées : il se trouve que cette lignée avait été rangée dans la classe 3 (pollen peu agglutiné). Une lignée n° 9 a été remarquée aussi pour l'absence d'épine sur 1 à 2 p. 100 de ses grains de pollen.

A l'opposé une lignée (n° 19) avait des épines très longues de 3,5 à 4 μ : elle avait été classée parmi celles à pollen fortement agglutiné.

La taille des grains de pollen, estimée d'après 15 grains, était comprise entre 31 μ et 35 μ de diamètre; aucune différence significative n'a été mise en évidence. Selon NEAGU (1960) il y aurait cependant de légères différences d'une zone à l'autre d'un même capitule et aussi entre six des variétés examinées par cet auteur.

KOVACIK (1959) a aussi observé des différences entre les variétés, mais il n'a pu, chez les hybrides, établir une relation avec des lignées constituantes. Selon lui, les variétés précoces auraient des grains plus petits que les variétés tardives.

La mobilité du pollen a été évaluée d'après $\frac{B}{A} \times 100$, rapport de la fertilité des fleurs sur des capitules abrités des insectes et non pollinisés manuellement, à la fertilité des fleurs dont l'autofécondation a été assistée (SEGALA *et al.*, 1980).

Les valeurs moyennes de cet indice de mobilité ont été de 55 p. 100 pour les lignées et de 42 p. 100 pour les hybrides; les coefficients de variation étant de 46 p. 100 et 57 p. 100 respectivement.

L'indice de mobilité du pollen n'est pas totalement indépendant du degré d'autocompatibilité pollinique et n'a qu'une valeur indicative. Nous n'avons enregistré aucune corrélation significative entre cet indice et les caractères du pollen qui ont été étudiés : abondance, taux de germination et degré d'agglutination.

L'autogamie du capitule en relation avec les caractères du pollen

Nous avons montré précédemment (SEGALA *et al.*, 1980), que le degré d'autocompatibilité expliquait environ 50 p. 100 de la variation du degré d'autogamie des lignées et des hybrides. Aux coefficients de régression simples (0,60 et 0,70 respectivement) il correspondait des coefficients de corrélation de 0,64 et 0,77, significatifs au seuil $p = 0,01$.

L'introduction d'autres variables (date de floraison, productivité en pollen, et pouvoir germinatif de celui-ci) afin d'établir des régressions multiples, n'a pas sensiblement modifié les coefficients de corrélation qui passent alors aux valeurs 0,74 et 0,79.

La date de floraison serait, après le degré d'autocompatibilité, le facteur le plus lié à l'autogamie. Selon PINTHUS (1959) le succès des autofécondations dépendrait de la température ambiante pendant la floraison et pour SCHUSTER (1970) aussi, l'influence de l'environnement serait au moins égale à celle des facteurs génétiques. C'est également l'opinion de VRANCEANU (1974).

Recherche de modes particuliers de développement des fleurs favorables à l'autogamie

La faible mobilité du pollen et la faible variabilité des caractères pouvant contribuer à l'accroître nous ont incité à rechercher des modes de développements de la fleur facilitant l'accès du pollen aux papilles des stigmates.

La biologie florale normale du Tournesol a été souvent décrite, notamment par PUTT (1940) et par BARBIER et ABID (1966). Le matin les sacs polliniques déversent leur pollen à l'intérieur du tube formé par les anthères. Dans sa croissance le style traverse la masse de pollen. Les faces dorsales velues des lobes stigmatiques accolés ramonent le tube des anthères. Le lendemain, 24 h après l'anthèse, le stigmate se déploie et les faces supérieures des deux lobes ne portent pas de pollen. Ceux-ci resteraient réceptifs durant 23 à 25 jours (USTINOVA, 1964) tandis que le pollen serait encore capable de germer en bonne proportion après une dizaine de jours selon MOVISYAN (1961) et USTINOVA (1964).

S'écartant de ces modalités normales, une lignée, « 6540/88 », a été signalée par SPIROVA (1966), ses lobes stigmatiques se déployaient bien avant d'avoir traversé la colonne des anthères et avant que les filets des étamines aient achevé leur elongation. Le pollen se déverse alors sur la face supérieure des lobes stigmatiques et ceci contribuerait à la grande autofertilité de la lignée en question. D'après SPIROVA, il s'agirait d'un caractère récessif, probablement polygénique obtenu après plusieurs générations d'autofécondation (fig. 6).

Le caractère décrit par SPIROVA a été rencontré sur quatre de nos lignées à l'étude (nos 6, 27, 36 et 37). Il ne s'exprime pas sur l'ensemble des fleurons du capitule mais sur 30 à 80 p. 100 de ceux-ci situés sur les deux premiers tiers marginaux du capitule. Il n'est pas possible d'affirmer que le caractère a bien contribué à l'obtention d'une bonne autogamie : l'une des lignées (n° 27) était en effet très autoincompatible, et une autre (n° 6) était assez peu autogame malgré une bonne autocompatibilité (mais 30 p. 100 seulement de ses fleurs étaient proto-gynes).

L'une des lignées (n° 19 = CA₄, parent femelle de l'hybride français « Relax ») présente la particularité d'avoir des étamines indépendantes; le stigmate se déploie librement parmi les anthères en cours de déhiscence. Toutes les fleurs d'un même capitule montrent ce caractère. Le degré d'autogamie de la lignée CA₄ est cependant faible (28 p. 100), ce que ne suffit pas à expliquer son degré d'autocompatibilité (48 p. 100) légèrement inférieur à la moyenne des lignées (56 p. 100).

Un troisième mode de développement floral a été observé sur les lignées n°s 11 et 38, chez lesquelles très fréquemment le style et le stigmate semblent bloqués dans leur croissance à travers le tube staminal, comme par un bouchon. Le style finalement s'arqueboute et fait saillie entre les filets des étamines. On peut douter que ce caractère soit favorable à l'autofécondation car les lignées n°s 11 et 38 ne sont pas très autogames (22 et 30 p. 100) malgré des degrés d'autocompatibilité de 85 et 43 p. 100 respectivement. L'obstacle opposé à la sortie du stigmate par les voies normales pourrait être l'indice de quelque défectuosité au niveau des anthères (fig. 6).

Finalement, le mécanisme décrit par SPIROVA nous semble le plus intéressant. Il conviendra de l'associer par croisement à un haut degré d'autogamie.

Conclusions

L'espèce *Helianthus annuus* L. est actuellement allogame et il a été souvent démontré que l'installation de ruches dans les cultures entraînait quelques gains de rendements. Aussi certains chercheurs s'efforcent-ils d'accroître l'attractivité des lignées et cultivars de Tournesol pour les insectes pollinisateurs. Cette voie n'est pas incompatible avec celle que nous avons suivie et qui vise à l'obtention d'hybrides dont la fertilité serait peu dépendante des échanges de pollen entre les plantes. Cet échange de pollen de toute façon est à rechercher pour la production des semences hybrides et c'est là que se présentent les problèmes de relations préférentielles entre les abeilles et les génotypes en présence. Il n'en est pas de même en grande culture, où un bon degré d'autogamie paraît avantageux.

L'autogamie des lignées et des hybrides de Tournesol est très variable. Nous avons montré que 50 p. 100 de cette variation devait s'expliquer par la variation du degré d'autocompatibilité, lui même hérité des lignées parentales chez les hybrides.

Les divers caractères du pollen, autres que la compatibilité pollinique, n'ont pas pu être associés clairement à un bon degré d'autogamie; mais l'addition de petits effets non significatifs pourrait contribuer à une meilleure autogamie.

La productivité en pollen, dont nous avons reconnu l'héritabilité, est très variable. C'est un caractère à ne pas négliger lorsque l'on a en vue la production de semences; il intervient cependant peu dans la réalisation d'une bonne autogamie.

La qualité du pollen ne joue que si l'on a affaire à une lignée anormalement défectueuse; ce qui ne s'est pas présenté dans notre matériel.

Quant à la mobilité du pollen, et à sa faible agglutination, il y a peu à espérer : l'obtention d'un pollen réellement pulvérulent semble encore très utopique.

Il reste à découvrir quelques mécanismes de l'anthèse et du développement du style favorisant l'autofécondation. Certains de ces mécanismes dès à présent paraissent intéressants. Leur efficacité sera à prouver après qu'ils auront été associés à de bons degrés d'autocompatibilité.

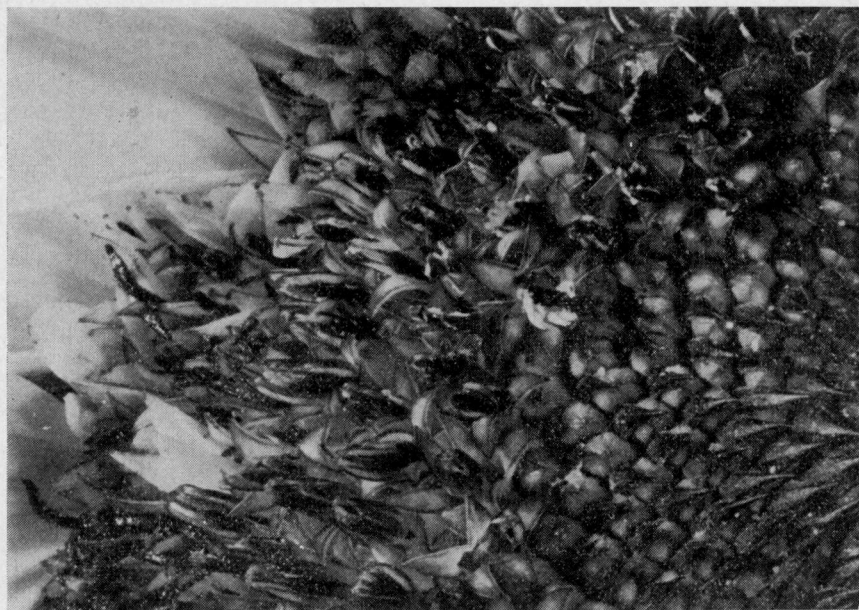


FIG. 6. — Développement floraux particuliers : 1) à gauche, colonne des anthères bouchée et styles courbés;
2) à droite déploiement précoce des stigmates chargés de pollen sur la face supérieure (Photo LABRY).

Il est encourageant de constater, à défaut d'en bien connaître les facteurs que l'autogamie est un caractère assez héritable ($b = 0,66$, dans notre cas). La création d'hybrides réellement autogames paraît possible.

Reçu pour publication en octobre 1979.

Summary

*Research for improving natural selfing in sunflower cultivars
(Helianthus annuus L.)*

II. — *Some characters allowing the pollen to reach easily the stigma papillae*

In the first part of this study we defined a degree of pollinic self compatibility and a degree of self pollination. We shew that the first one could explain 50 p. 100 of the variance of the second one. Other factors of a high degree of self pollination are to be found *i.e.* a whole of characters increasing the probability for a pollen grain reaching the upper side of the stigma. Some such characters are reviewed.

1. — *Pollen abundance*

The pollen productivity index is the number of pollen grains counted under the microscope after extraction in liquid medium from crushed anthers and centrifugation (multiplying this index by 26 gives the number of pollen grains in one anther).

In a first experiment in a greenhouse we recorded the pollen productivity during the flowering period for three cultivars (fig. 1). We decided to choose the fourth day of flowering to collect 5 florets as a sample of each head.

The variations of pollen productivity are shown in fig. 2 and 3. The hybrids have on average a significantly higher pollen productivity.

The heritability is: $b = 0,59$ (H.S.).

2. — *Pollen germinating ability*

Having tried several media we adopted that proposed by BOBECK and KOVACIK (1972) Glass coated with the medium then sown with pollen was placed during 24 h in damp air at 26 °C.

Pollen germinating ability of hybrids (27 p. 100), is significantly higher than that of the lines (20 p. 100).

The heritability is $b = 0,40$ (S.).

The quality of the pollen was judged also after blue aniline coloration. However the results of those tests do not agree with the pollen germinating abilities; the correlation coefficients are not significant: $r_H = + 0,66$ and $r_L = + 0,29$, for the hybrids and the inbred lines, respectively.

3. — *Agglutination and pollen mobility*

The liberated pollen divides into fractions always formed of linked grains due to the structure of the exine and chiefly to the yellow waxy matter named "pollenkitt" (KNOLL), (fig. 4). The degree of agglutination had to be value visually and is defined as one of the three classes:

Class 1: (strong agglutination), pollen forming two pasty masses under the stigma lobes.

Class 2: (moderate agglutination), pollen flakes.

Class 3: (light agglutination), pollen dispersed into many small heaps in all parts of the head.

70 p. 100 of the lines and the hybrids fall into the median class. We could not associate the degree of agglutination with the optical density of pollen alcoholic extracts as a pollenkit abundance valuation.

The pollen spine length varies from 2 μ to 3 μ ; but one line (n° 13), classed among the light agglutinated ones, had spines 1,5 μ long. In contrast, the line n° 19 had spines 3,5 to 4 μ long: it had been classed among the strongly agglutinated lines.

The variation of pollen grain sizes was very small.

The pollen mobility, $\frac{B}{A} \times 100$ is significantly less for the hybrids, ($\bar{m} = 41,8$ p. 100), than for the inbred lines ($\bar{m} = 55$ p. 100). The pollen mobility index does not agree with the classification for agglutination degree.

To determine the participations of the logical components of self fertility we calculated the multiple regressions among the lines and among the hybrids. In both cases the most important variable was the pollinic self compatibility, with coefficients already given.

The correlation coefficients are slight changed ($r_H = 0,74$ and $r_L = 0,79$) adding other variables.

The degree of self fertility of sunflower appears as a character having a good heritability but not particularly related to any component other than the self compatibility.

4. — Particular flowering mechanisms

To palliate poor pollen mobility, some special floral developments might facilitate the access of pollen on the upper side of the stigma. Three such mechanisms were discovered:

Type 1 = (like described SPIROVA, 1966), the stigma spreads out its lobes during its growth into the filament tube; 4 of the lines had this character which is probably polygenic.

Type 2 = one line had free filaments.

Type 3 = in one line, 30 p. 100 of the florets had the style stopped during its growth and obliged to break out of the filament tube.

These mechanism have to be associated with the other factors of self fertility in order to prove their efficiency.

Références bibliographiques

- BARBIER F., ABID N., 1966. Pollinisation et formation des graines chez le Tournesol. *Al Awamia*, **21**, 63-83.
- BOBECK J., KOVACIK A., 1972. Pollen germination in Sunflower. *Helianthus annuus* L. *in vitro* (tch.-an.) *Sbor. U.V.T.I. Genet-Slecht.*, **8**, (4), 243-250.
- BREWBAKER J. L., KWACK B. H., 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Amer. J. of Bota*, **50** (9), 859-865.
- DEXHEIMER J., 1970. Recherches cytophysiologiques sur les grains de pollen. *Rev. cytol. Biol. vég.*, **33**, 169-234.
- HAUSER E., J. P., MORRISON J. H., 1964. The cytochemical reduction of nitro blue tetrazolium as an index of pollen viability. *Amer. J. Bot.*, **51**, (7), 748-752.
- HESLOP-HARRISON J., 1968. Tapetal origin of pollen coat substances in lilium. *New. Phytol.*, **57**, 779-786.
- JOHANSEN D. A., 1940. *Plant microtechnique*. Mac Grow, New York, 523 p.
- KOVACIK A., 1959. The influence of the intervarietal hybridization the length and width of stoma and the diameter of pollen grains with F₁ and F₂ sunflower. *Pol'nohospodarstvo*, **6**, (5), 661-630.
- MOVISYAN S. N., 1961. Changes in the embryo sac of Sunflower resulting from pollinisation of the stigma with aging pollen. *News acad. Sci. Armen. SSR*, **14**, (6), 29-37.
- NEAGU M., 1960. Contribuții la studiul biologiei inflorescenței la Florea soarelui. *Lucrar sti. Inst. agron. Timisoara*, **3**, 5-18.

- OBOLENSKY G., 1958. Production of pollen in different lines of Sunflowers and its relation to production of crossed seed. *Qual-plant matter. Veg.*, **5**, 64-84.
- PINTHUS M. J., 1959. Seed set of self-fertilized Sunflower heads. *Agron. J.*, **51**, p. 626.
- PUTT E. D., 1940. Observation on morphological characters and flowering processes of the sunflower. *Scient. Agric.*, **21** (4), 167-179.
- SCHUSTER W., 1970. Die Fertilität nach erzwungener Selbstung bei Sonnenblumen. *Angew. Bota.*, **44**, 87-102.
- SEGALA A., SEGALA M., PIQUEMAL G., 1980. Recherches en vue d'améliorer le degré d'antogamie des cultivars de Tournesol (*Helianthus annuus* L.) I. L'antogamie et l'antocompatibilité polliniques. *Ann. Amélior. Plantes*, **30**, (2), 151-159.
- SPIROVA M., 1966. Étude de la pollinisation et de la fertilisation chez quelques lignées de Tournesol (en bulgare). *Rasteniev' dni-Nauk* (Sofia), **3** (2), 3-10.
- STANLEY R. G., LINKENS H. F., 1974. *Pollen: Biology, biochemistry, management*. Springer-Verlag, Berlin, 307 p.
- USTINOVA E. I., 1964. Variabilité du génotype femelle chez le Tournesol (en russe). *Bjull. mos. Obsc. Ispyt. Prirod. Otdel Biol.*, 69 (4), 111-117.
- VRANCEANU A. V., 1964. *Florea-soarelui*. Editura Academiei Republicii Socialiste România.
-

Contribution à l'amélioration génétique de la fructification du Tournesol (*Helianthus annuus* L.). Variation du taux de fructification des fleurs selon leur emplacement et leur orientation

G. PIQUEMAL, et J. Cl. MOURET

Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.,
Centre de Recherches agronomiques de Montpellier
34060 Montpellier Cedex

Résumé

Une fois la fécondation accomplie, la fructification reste dépendante du développement des embryons soumis à de nombreux facteurs incontrôlables des milieux interne et externe.

Pour que se réalise une meilleure fructification, le sélectionneur pourrait s'efforcer d'obtenir la formation des fleurs en certains sites abrités des conditions défavorables.

C'est dans ce but que nous avons étudié la variation du taux de fructification et de certains indices de bonne maturité des akènes selon leur place sur le capitule et selon les orientations données à celui-ci dès la fin de la floraison.

Introduction

Un mauvais taux de fructification chez le Tournesol est souvent attribué à un échange insuffisant de pollen entre les plantes de cette espèce allogame.

L'autoincompatibilité pollinique est généralement appréciée par la comparaison des résultats d'autofécondations de capitules ensachés à ceux des capitules pollinisés librement ou fécondés par du pollen étranger. Procédant ainsi, SEGALA *et al.* (1980) ont montré que 50 p. 100 de la variation du degré d'autogamie dépendait de la variation du degré d'autocompatibilité pollinique. Il restait donc une bonne part de variation mal expliquée par les autres caractères du pollen. En fait l'observation correcte et précise de l'autocompatibilité exigerait des conditions de milieu très favorables à l'allongement du tube pollinique, à la fécondation de l'ovule puis à la croissance de l'embryon. Pour cette raison, peut-être, certains auteurs ont été amenés à conclure que « le système d'inhibition du pollen est très affecté par les conditions climatiques pendant la floraison et spécialement par la température » (VRANCEANU, 1974).

Dans l'échec de la fructification, il convient de séparer la part qui revient au défaut de fécondation et celle qui revient à un mauvais développement de l'embryon.

Les variations dans l'espace et dans le temps des milieux interne et externe qui interviennent après la fécondation vont se traduire par des variations du taux de fructification et aussi de la qualité des akènes en différents points du capitule.

De nombreuses expérimentations l'ont mis en évidence en faisant jouer l'alimentation minérale ou hydrique. Citons, parmi les plus récentes, celles rapportées par SINDAGI (1978) concernant les effets sur la fructification des macro et micro-éléments minéraux, des déficits en eau, ainsi que des applications de régulateurs de croissance.

Du point de vue du sélectionneur appelé à adapter un cultivar à des milieux qu'il ne peut pas maîtriser, un intérêt particulier est porté aux données mettant en évidence, plutôt que des effets globaux, des effets localisés sur la plante. Il en tiendra compte alors pour s'imaginer un idéotype.

Au sujet de la fructification, beaucoup d'observateurs ont été enclins à comparer entre elles les zones concentriques du capitule. Ainsi LENCREROT *et al.* (1977) ont montré que les akènes, vers le centre du capitule, d'un âge physiologique moins avancé que ceux de la partie marginale, avaient des teneurs moindres en huile et en protéines. La présence d'un centre stérile du capitule plus fréquente

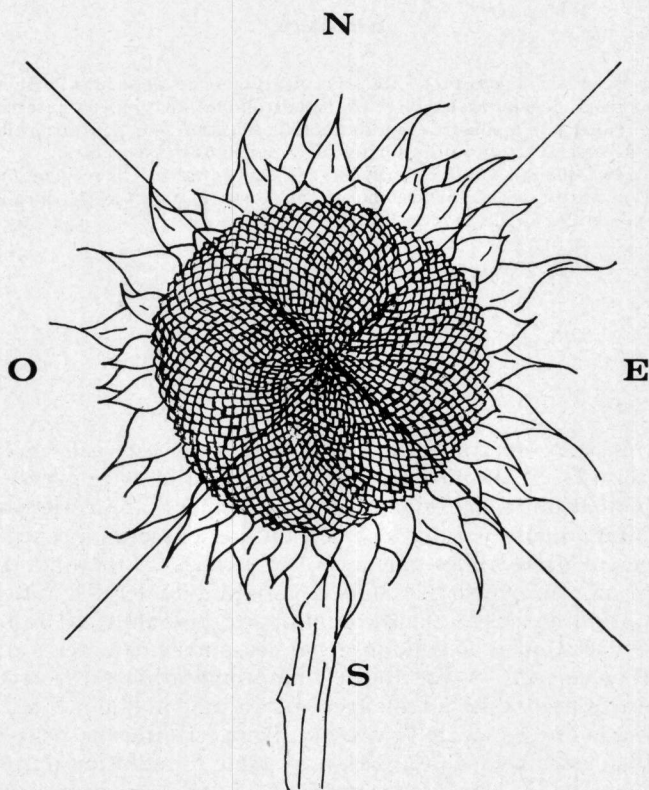


FIG. 1. — Définition des quadrants du capitule

chez certains cultivars et contrôlée génétiquement (VRANCEANU, 1974) traduit certainement des conditions physiologiques particulières en cet emplacement. Celles-ci pourraient résulter d'une concurrence de la part des akènes plus âgée. D'ailleurs une compétition entre akènes, en plusieurs point du capitule, a été montrée par PATIL *et al.* (1976).

Plutôt qu'à une variation centripète, facilement prévisible et sans doute impossible à contrarier, nous avons préféré étudier une variation selon certains quartiers du capitule. Tout sélectionneur ayant eu à ensacher des capitules en vue de leur autofécondation aura constaté chez certaines lignées des échecs plus fréquents dans le quart supérieur du disque florifère.

En est-il de même sur des capitules pollinisés librement? Les changements d'orientation ou certains traitements appliqués aux capitules seraient-ils capables de modifier la fructification? Pourra-t-on en tirer des conclusions quant à une conformation et un port idéal du capitule à réaliser par la sélection? C'est pour répondre à ces questions que nous avons conduit durant l'été 1978, au domaine de Lavalette (Montpellier), deux essais qui seront rapportés ci-après.

Le premier de ces essais visait à comparer, sur 5 cultivars, les taux de fructification sur 4 quadrants de capitule (fig. 1).

Le second essai se proposait d'observer chez un hybride simple la variation du taux de fructification sur deux de ces emplacements opposés, les capitules étant soumis à divers changements d'orientation.

Matériel et méthode

Dans le premier essai, nous avons utilisé 5 cultivars demi-tardifs :

- « Mirasol », hybride simple à cytoplasme CMS,
- « Balkan » et « Pérédovik », cultivars riches en huile d'origines bulgare et russe,
- « Stadium », variété bulgare à grosse graine destinée à la consommation de bouche,
- « Gizeh », variété égyptienne à akènes blancs, de coque épaisse.

Chacun de ces cultivars nous a fourni 3 lots comparables de 10 plantes destinées à recevoir l'un des 3 traitements suivants :

- T = lot témoin pollinisé librement par les insectes,
- A = pollinisation assistée quotidienne de chaque capitule par son propre pollen, les capitules étant placés sous des sacs de papier blanc sulfurisé.
- B = les capitules, également ensachés, ont été pollinisés par un mélange de pollen de tous les cultivars.

A la fin de la floraison, un échantillon de 25 fleurs a été repéré à l'aide d'épingles à tête colorée dans chacune des 4 zones du capitule désignées par les lettres : N, S, E, O (fig. 1 et 2).

A maturité nous avons compté le nombre de grains pleins produits par les fleurs marquées initialement.

Dans le deuxième essai, nous avons utilisé un hybride simple de cytoplasme CMS. Nous avons constitué 6 lots de 5 plantes. Ces lots ont reçu dès le début de la floraison l'un des 6 traitements principaux suivants (fig. 3) :

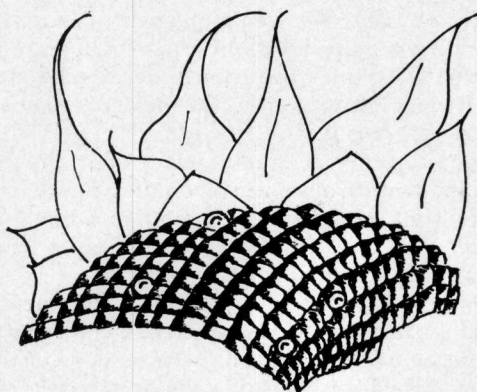


FIG. 2. — *Repérage des échantillons de 25 fleurs et de leurs akènes*

T = témoin pollinisé librement,

A = le capitule est redressé et lié à un tuteur afin d'exposer ses fleurs dans un plan vertical face au Sud-Est,

a = l'orientation du capitule est la même que pour A, mais, à la fin de la floraison, une incision profonde d'1 cm a été pratiquée dans la courbe interne de la tige, du papier cartonné étant glissé dans cette incision,

B = le capitule reçoit une orientation opposée à celle de A,

b = le dos du capitule traité comme B est protégé de l'action du soleil par une plaque de carton,

C = nous nous sommes efforcés de tourner vers le sol la face fructifère du capitule. Cette disposition, naturelle chez beaucoup de cultivars, se développe en réalité peu à peu au cours de la maturation. Elle s'explique par le poids croissant du capitule porté par une tige relativement mince et souple. Quelques sélectionneurs l'ont parfois recommandée (indice de bonne productivité, protection contre les oiseaux, etc...), mais plus généralement, on cherche à l'éviter pour réduire les risques de verse. Les hybrides actuellement offerts aux cultivateurs, ont une taille assez basse, une tige raide et un capitule bien redressé.

L'hybride que nous avons utilisé présentait ces caractéristiques. Leur modification artificielle a été très contraignante pour les plantes. Il nous a fallu intervenir dès le début de la floraison afin de réaliser la courbure des tiges. Les plantes traitées ont été pénalisées aussi car elles se trouvaient à l'ombre de leur voisin au feuillage plus élevé.

En définitive nous avons eu à comparer 12 traitements élémentaires combinant les 2 zones, N et S, et les 6 manipulations décrites ci-dessus que nous qualifierons du terme *d'orientation*.

Comme pour la première expérience, 25 fleurs ont été repérées en chaque emplacement N et S, soit 125 fleurs par traitement élémentaire : cet effectif trop réduit ne permettant pas de mettre en évidence des différences souvent minimes, nous avons été amenés à faire des comparaisons à partir des récoltes entières des quartiers N et S.

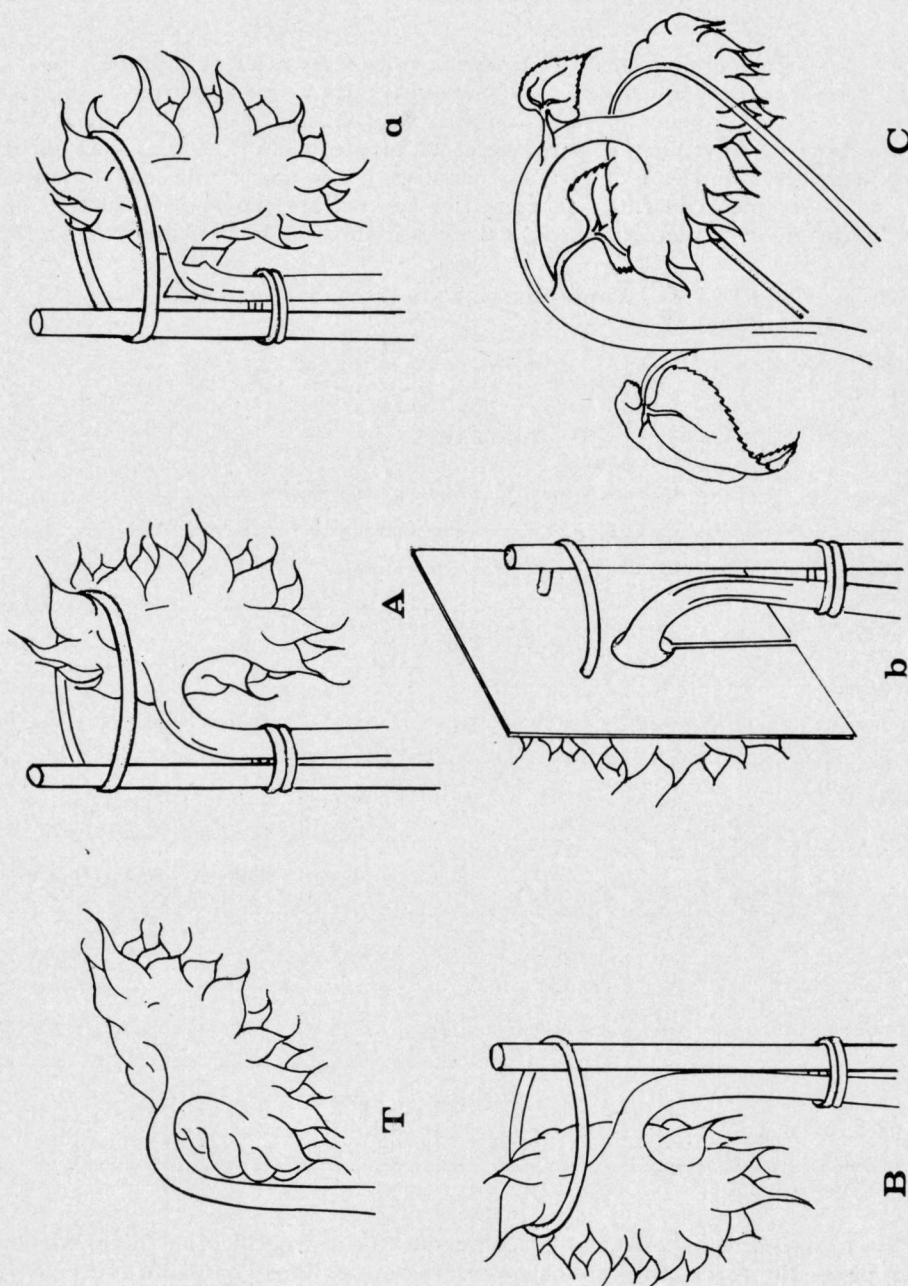


FIG. 3. — Les différents traitements « orientation » appliqués aux capitules

Résultats

I. — Comparaison de la fructification suivant les zones du capitule et la nature du pollen chez 5 cultivars (première expérience)

Les taux de fructification par zone et par plante, n'étant estimés qu'à partir de 25 fleurs, ces données n'ont pas été soumises à une analyse de leur variance. Nous nous sommes contentés de comparer les valeurs moyennes affectées de leurs limites de confiance ($p = 0,05$) calculées d'après la loi binômiale :

$$\bar{m} = p \pm \left\{ 1,96 \frac{\hat{p}\hat{q}}{n} + \frac{1}{2n} \right\} \text{ d'après SENEDECOR G. W. et COCHRAN W. G.}$$

TABLEAU I

Taux de fructification % fleurs en pollinisation libre

Variétés	Zones du capitule				$\bar{m} \pm \text{p.p.d.s. } (0,05)$
	E	O	N	S	
« Stadium »	86,8	92,0	89,2	86,0	88,5 % $\pm 2,2$
« Balkan »	88,0	88,8	82,4	86,4	86,4 $\pm 2,2$
« Peredovik »	89,2	88,0	88,0	83,6	87,2 $\pm 2,4$
« Gizel »	90,2	82,2	90,2	88,9	87,9 $\pm 2,1$
« Mirasol »	91,6	87,6	88,8	89,6	89,4 $\pm 1,9$
$\bar{m}$	89,2	87,7	87,7	86,9	
$\pm \text{p.p.d.s. } (0,05)$	$\pm 1,9$	$\pm 2,1$	$\pm 2,1$	$\pm 2,1$	

En pollinisation naturelle (tabl. I) le taux moyen de fructification (d'après 1 000 fleurs prises sur 10 capitules de chaque variété) est, dans l'ensemble, très élevé. Il a varié entre 86,4 p. 100 et 89,4 p. 100, pour les variétés; l'écart entre ces extrêmes étant significatif. La comparaison entre les 4 zones du capitule ne montre pas de différence.

En pollinisation manuelle sous sac avec un mélange de pollens très divers (tabl. 2) nous constatons une nette réduction du taux de fructification due principalement aux conditions créées par le sac.

TABLEAU 2

Taux de fructification % fleurs, en fécondation croisée sous sac de papier

Variétés	Zones de capitule				$\bar{m} \pm \text{p.p.d.s. (0,05)}$
	E	O	N	S	
« Stadium »	39,6	34,8	14,8	52,0	$35,3 \pm 3,1$
« Balkan »	50,4	44,0	38,0	53,2	$46,4 \pm 3,1$
« Peredovik »	53,2	42,0	7,2	71,2	$43,4 \pm 3,1$
« Gizeh »	78,8	72,4	64,8	75,2	$72,8 \pm 2,8$
« Mirasol »	31,2	65,8	3,2	87,6	$47,0 \pm 3,1$
$\bar{m}$	50,6	51,8	25,6	67,8	
p.p.d.s. (0,05)	$\pm 2,8$	$\pm 2,8$	$\pm 1,9$	$\pm 2,6$	

La variété égyptienne « Gizeh » est, cependant, beaucoup moins affectée que les autres : son taux de fructification (72,8 p. 100) équivaut à 83 p. 100 de celui enregistré en fécondation naturelle et qui était de 87,9 p. 100 (tabl. 1).

La variété « Stadium » n'a plus qu'un taux de 35,3 p. 100 au lieu de 88,5 p. 100, soit 40 p. 100 du taux initial. Les deux autres variétés ont leur fructification réduites de 50 p. 100.

Les écarts entre les moyennes par zone (tabl. 2) sont très importants : 25,6 p. 100 de fructification en N et 67,8 p. 100 en S.

Il existe vraisemblablement une interaction entre les variétés et les zones. La différence entre les deux zones N et S est particulièrement marquée pour les deux variétés « Peredovik » (7,2 p. 100 en N et 71,2 p. 100 en S) et « Mirasol » (3,2 p. 100 et 87,6 p. 100), (tabl. 2). La variété égyptienne, dont la fructification était le moins diminuée sous sac, est aussi celle qui présente le moins d'écart entre les deux zones N et S avec 64,8 p. 100 et 75,2 p. 100 respectivement. La variété « Gizeh » a fleuri avec une semaine de retard sur les 4 autres cultivars. Les relevés météorologiques ont montré cependant que dans tous les cas, les conditions étaient semblables : températures journalières moyennes de 20 à 23 °C fin juillet et courant août.

TABLEAU 3

Taux de fructification % fleurs, en autofécondation assistée, sous sac de papier

Variétés	Zones de capitule				$\bar{m} + 2 \sigma$
	E	O	N	S	
« Stadium »	12,8	15,6	2,0	19,6	12,5 $\pm$ 2,1
« Balkan »	11,2	15,6	9,2	26,8	15,7 $\pm$ 2,3
« Peredovik »	26,4	24,4	21,6	31,6	27,1 $\pm$ 2,8
« Gizeh »	53,6	54,4	44,8	48,8	50,4 $\pm$ 3,1
« Mirasol »	58,0	75,6	3,2	86,4	55,8 $\pm$ 3,1
$\bar{m}$	32,4	37,1	16,2	42,6	
$\pm 2 \sigma$	$\pm 2,6$	$\pm 2,7$	$\pm 2,1$	$\pm 2,8$	

En autofécondation assistée, sous sac (tabl. 3), nous voyons que la mauvaise fécondation déjà observée avec du pollen étranger est ici accentuée; les variations vont dans le même sens, si l'on confronte les moyennes en marge des tableaux 2 et 3. La réduction supplémentaire des taux de fructification en autofécondation s'explique par l'intervention du facteur « pollen », aux deux niveaux que nous avons déjà signalés. D'abord, sûrement, au moment de la germination des grains de pollen sur le stigmate (autocompatibilité), mais vraisemblablement aussi, après la fécondation. On peut penser que l'embryon venu d'autofécondation ne bénéficie pas d'une vigueur hybride comparable à celle de l'embryon venu d'une fécondation croisée : ses chances de complet développement seront moindres (*). Il est difficile de séparer les causes qui, avant et après l'autopollinisation, amènent une réduction du taux de fructification, nous devons les confondre en un « effet pollen ». Celui-ci peut être mesuré par les écarts entre les taux de fructification enregistrés avec les deux natures de pollen (colonne 5 du tabl. 4).

Ces écarts, ou ces écarts relatifs (colonne 6) montrent que cet « effet pollen » est nul pour Misarol auquel convient son propre pollen.

L'« effet pollen » se retrouve aussi dans la comparaison des zones du capitule (colonne 5 du tabl. 5), mais les écarts relatifs (colonne 6) semblent indiquer que l'« effet pollen » est à peu près le même dans les quatre quadrant. Or nous savons que

(*) Des travaux récents de A. SEETHARAM, P. KUSUMAKUMARI et S. S. SINDAGI (1977) ainsi que ceux de T. E. THOMPSON, G. N. FICK et J. C. CEDENO (1978) laissent entrevoir quelques faits de « métaxénie » et d'hétérosis dès avant la germination des semences F_1 , dont la taille et la teneur en huile varieraient selon la lignée paternelle utilisée.

TABLEAU 4

Taux de fructification selon les variétés

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
« Stadium »	88,5 ± 2,1	35,3 ± 3,1	40	12,5	22,8	64,6
« Balkan »	86,4 ± 2,2	46,4 ± 3,1	54	15,7	30,7	66,2
« Peredovik »	87,2 ± 2,4	43,4 ± 3,1	50	27,1	16,3	37,6
« Gizéh »	87,9 ± 2,1	72,8 ± 2,8	83	54,0	18,8	25,8
« Mirasol »	89,4 ± 1,9	47,0 ± 3,1	52	55,8	8,8	18,7

(1) : Pollinisation naturelle.

(2) : Pollinisation sous sac (allopollen).

(3) : Rapport $\frac{(2) \times 100}{(1)}$.

(4) : Pollinisation sous sac (autopollen).

(5) : Écart (2) — (4).

(6) : Écart relatif $\frac{(2) - (4)}{(2)} \times 100$.

TABLEAU 5

Taux de fructification selon les zones du capitule

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
E	89,2 ± 1,9	50,6 ± 2,8	56,7	32,4 ± 2,6	18,2	36,0
O	87,7 ± 2,1	51,8 ± 2,8	59,1	37,1 ± 2,7	14,7	28,4
N	87,7 ± 2,1	25,6 ± 2,0	29,2	16,2 ± 2,1	9,4	36,7
S	86,9 ± 2,1	67,8 ± 2,6	78,0	42,6 ± 2,8	25,2	37,2

(1) : Pollinisation naturelle.

(2) : Pollinisation sous sac (allopollen).

(3) : Rapport $\frac{(2) \times 100}{(1)}$.

(4) : Pollinisation sous sac (autopollen).

(5) : Écart (2) — (4).

(6) : Écart relatif $\frac{(2) - (4)}{(2)} \times 100$.

les taux de fructification ne sont pas les mêmes en N et en S, où l'on doit supposer des microclimats différents. Si ceux-ci modifient les taux de fructification, sans variation concomitante de l'« effet pollen », c'est qu'ils n'affectent pas la germination du pollen et la croissance des tubes polliniques, mais bien plutôt la fécondation de l'ovule ou le développement ultérieur de l'embryon. Ce développement serait compromis sous des conditions climatiques très dures qui ne se rencontrent pas normalement dans notre pays, mais qui seraient réalisées dans les sacs de papier, surtout dans la partie supérieure. La variété égyptienne « Gizeh » est peut-être adaptée à de tels climats.

II. — Les effets du port et des orientations du capitule sur la fructification (deuxième expérience)

1) *Taux de fructification % fleurs* (tabl. 6) : les taux de fructification sont très élevés et les petites différences constatées ont peu de signification, les estimations étant basées sur 750 fleurs pour les moyennes des zones et 250 fleurs pour celles des traitements.

TABLEAU 6

Nombre de bons grains % fleurs selon les orientations et les zones

Zones	Orientation						$\bar{m} \pm \text{p.p.d.s.}$ (0,05)
	T	A	a	B	b	C	
N	95,2	94,0	96,0	96,0	96,0	91,2	94,7 $\pm$ 1,6
S	93,2	96,0	98,4	96,0	99,2	94,4	96,2 $\pm$ 1,4
$\bar{m}$	94,2	95,0	97,2	96,0	97,6	92,8	
$\pm \text{p.p.d.s. (0,05)}$	$\pm 3,1$	$\pm 2,9$	$\pm 2,2$	$\pm 2,6$	$\pm 2,1$	$\pm 3,4$	

On note cependant un avantage pour la partie S, (96,2 p. 100), sur la partie N, (94,7 p. 100). Quant à la part significative des orientations que nous a révélée une analyse de la variation totale, elle s'explique par le seul traitement, C, avec toutes les réserves que nous avons déjà formulées à son sujet.

2) *Rendement en grain par quartier* (en grammes de grains séchés à l'air). Les capitules classés d'après leur productivité ont été groupés en « blocs » de même rang afin d'analyser la variance des rendements par quartier. Les productions moyennes en grain ont été de 21,3 g pour le quart supérieur, N, d'un capitule et de 23,2 g pour le quart inférieur, S; la différence entre ces moyennes n'étant pas significative.

Seul le traitement C correspond à une réduction de rendement et aucune interaction entre zones et orientations n'a été mise en évidence.

Pour une analyse plus précise des résultats nous avons été amenés à rapporter, pour chaque capitule, les observations de la partie N à celles de la partie S. Ces rapports ont été exprimés en pourcentage et leurs valeurs moyennes seront comparées à la borne 100.

3) *Comparaison des rapports « N/S » pour la productivité, les nombres de grains pleins, de grains vides et de fleurs supposées fécondées* (c'est-à-dire grains pleins plus grains vides). Les valeurs moyennes de tous ces rapports sont réunies au tableau 7.

TABLEAU 7

Valeurs des rapports « N/S », pour diverses composantes de la productivité

Caractères comparés	Traitements (orientations)						F	p.p.d.s. (0,05)
	T	A	a	B	b	C		
Poids de grain récolté (g) . . .	92,4	86,2*	89,2*	102,8	107,4*	90,8	3,65	15,16
Nombre grains pleins	92,1	94,2	98,0	108,2	112,8	93,8	3,48	19,98
Nombre de grains vides . . .	92,0	143,2	133,6	126,6	133,0	160,8	0,40	N.S.
Nombre de fleurs fécondées .	76,6*	96,4	98,8	108,4	112,8*	95,4	5,21	4,30
Poids de 1 000 grains (g) . . .	103,2*	92,2	93,6	91,2	90,2	95,6	1,44	N.S.

Comparaison à la borne 100 : *limite 0,05.

Nous voyons que, dans l'ensemble, toutes ces moyennes, inférieures à 100, sont en faveur de la partie S; sauf pour les traitements B et b pour lesquels les capitules présentaient le dos au soleil. Des différences significatives ont été enregistrées dans la comparaison des moyennes, deux à deux. Mais si l'on se rapporte à la borne 100, seuls les traitements A et a (capitules dressés face au soleil) ont entraîné une réduction significative de la production en grain dans le quartier supérieur.

Les *grains vides* étaient très peu nombreux et les rapports estimés pour ce caractère sont très aléatoires (troisième ligne du tabl. 7). Pour la même raison doivent être acceptés avec quelques réserves les résultats enregistrés pour le nombre de fleurs fécondées obtenus par l'addition des grains pleins et des grains vides.

4) *Comparaison du poids de 1 000 grains (d'après 100 grains choisis de taille moyenne)*. Le tableau 8, nous montre les valeurs moyennes des poids de 1 000 grains, en grammes. L'analyse de la variance a fourni une valeur assez élevée de l'indice F, ($F = 3,5$), proche du seuil de certitude ($p = 0,05$ $F = 4,22$), pour la part due aux zones. Les parts revenant aux orientations et à leur interaction avec les zones ne sont pas significatives.

TABLEAU 8

Poids de 1 000 grains en g

Zones	Orientations						$\bar{m}$
	T	A	a	B	b	G	
N	84,9	76,9	76,1	73,0	72,5	70,2	75,6
S	82,0	83,6	84,6	78,0	80,2	73,3	80,2
$\bar{m}$	83,5	80,3	80,3	75,4	76,4	71,7	

Il en est de même pour le rapport du poids des 1 000 grains de la partie N à celui de la partie S (ligne inférieure du tabl. 7). Ce rapport est cependant à l'avantage du quartier inférieur, sauf pour le témoin.

5) *Variation de la composition des akènes* (tabl. 9). Les akènes prélevés dans les deux zones, N et S, de chaque capitule ont été analysés pour en déterminer les pourcentages de coque, d'huile et de protéine (*). Les données recueillies en N ont été rapportées à celle obtenues en S et les variations de ces rapports ont été analysés.

Les valeurs enregistrées par le test F n'autorisent pas la comparaison des moyennes des traitements deux à deux, mais la comparaison de ces moyennes à la borne 100 est possible.

En règle générale, indépendamment des traitements qui ont été appliqués, nous voyons d'après les moyennes (deux dernières colonnes du tabl. 9) que les akènes de la partie N, déjà reconnus plus légers que ceux de la partie S, renferment moins d'amandes (rapport des coques, 106,3 p. 100) et pour cela aussi moins d'huile (rapport, 97 p. 100). En outre, les amandes seraient plus riches en protéine et moins pourvues d'huile.

Ces caractéristiques se retrouvent pour l'ensemble des traitements, mais elles sont plus accentuées pour le traitement « A » (capitule redressé face au soleil). Le sectionnement des vaisseaux conducteurs dans la partie interne du col, (traitement, « a ») a renversé la tendance générale en faveur des akènes de N.

(*) Nous avons utilisé un analyseur à réflexion dans l'infrarouge, NEOTEC, qui a fourni les teneurs en huile, protéine, eau et coque avec des erreurs relatives respectives de 4 p. 100, 4 p. 100, 6 p. 100 et 7 p. 100.

TABLEAU 9

Valeurs des rapports N/S pour quelques constituants des akènes

Caractères comparés	Traitements (orientations)						moyen- nes	$100 + \frac{2\sigma\bar{m}}{2\sigma\bar{m}}$ ou $100 - \frac{2\sigma\bar{m}}{2\sigma\bar{m}}$
	T	A	a	B	b	C	$\bar{m}$	
% de coque . . .	108,0	111,8(*)	109,0	95,6	108,2	105,2	106,3	104,6
Huile dans l'akène .	95,8	94,8(*)	99,6	99,6	96,0	96,2	97,0	97,8
Huile dans l'amande	98,6	99,8	104,0(*)	98,4	99,8	98,2	99,8	98,7
Protéine dans l'a- mande	106,2(*)	108,6(*)	100,6	101,0	106,6(*)	105,2(*)	104,7	102,9

(*) Moyennes des traitements significativement différentes de la borne 100.

Trois caractères sont associés au développement plus ou moins achevé de l'akène : la proportion de coque, le poids de 1 000 grains et la teneur en huile dans les amandes. Nous avons calculé les coefficients de corrélation entre les deux derniers caractères et le premier.

Poids de 1 000 grains et pourcentage de coques : à partir des 60 données, nous n'avons trouvé aucune corrélation, ($R = 0,012$). Mais après avoir séparé les données relatives aux deux zones, nous avons obtenu les coefficients :

$$r_N = -0,567 \quad (t = 3,64 \text{ très significatif})$$

$$r_S = +0,235 \quad (t = 1,28 \text{ non significatif})$$

Dans la partie N, la réduction du poids des akènes est donc associée à une réduction de la proportion d'amande.

Dans la partie S, les akènes les moins lourds doivent être d'un volume plus petit sans que leur remplissage ne soit en cause.

Pourcentage d'huile dans l'amande et pourcentage de coque : les coefficients de regressions ont été les suivants :

$$R = -0,245 \quad (t = 1,92)$$

$$r_N = -0,341 \quad (t = 1,91)$$

$$r_S = -0,169 \quad (t = 0,91)$$

Les deux premiers coefficients, très proches du seuil admis pour $p = 0,05$, indiquent qu'un développement incomplet de l'amande est associé à une accumulation d'huile plus réduite. Ce fait est plus marqué dans la partie N qu'en S.

Conclusions

Au cours de l'été 1978, les températures moyennes journalières, plus basses qu'à l'ordinaire, nous ont permis d'enregistrer des taux de fructification élevés, allant de 87 à 98 akènes formés pour 100 fleurs. Dans ces conditions nous n'avons observé que de faibles variations du taux de fructification entre divers points des capitules.

Au contraire une fructification très défectueuse a été remarquée dans la partie supérieure, N, des capitules placés dans des sacs de papier pendant la floraison et jusqu'à la récolte.

Plus qu'à un défaut de fécondation ou à quelque autre « effet pollen », nous pensons que le taux de fructification a été affecté par un mauvais développement des embryons. A ce sujet des différences variétales ont été mises en évidence montrant pour la variété égyptienne « Gizeh » une bonne tolérance aux conditions difficiles. Cette tolérance s'expliquerait par l'origine géographique et peut-être aussi par la coloration blanche des akènes de cette variété; ce qui protégerait l'embryon d'un excès de rayonnement solaire.

D'avantage que le taux de fructification, ce sont les caractères des akènes qui rendent le mieux compte de la productivité moindre du quartier supérieur du capitule réduite à 90 p. 100 de celle du quartier inférieur. Dans cette dernière partie, les akènes sont plus lourds, mieux remplis et leurs amandes sont plus riches en huile.

Ces faits, peu modifiés par les divers traitements que nous avons appliqués, ont été surtout accusés par l'exposition des capitules aux rayonnements solaires (traitement A et a). Ils ne sont que légèrement atténués par une orientation opposée.

Du point de vue pratique, et surtout dans les pays chauds et secs, la recherche de capitules situés dans un plan parfaitement vertical ne semble pas devoir être recommandée. Une légère inclination, en réduisant l'angle d'incidence des rayons du soleil, serait préférable.

L'obtention de cultivars présentant les dos des capitules au soleil nécessiterait un effort de sélection sans doute disproportionné avec l'avantage à en attendre (*). Par contre un développement plus harmonieux de tous les akènes d'un même capitule pourrait s'acquérir par une réduction du diamètre de celui-ci. Cette réduction de taille serait alors à compenser par le nombre de capitules au mètre carré de surface cultivée. Nous pensons là à des formes nouvelles « multicapitées », ou à tête unique mais adaptées à des peuplements très denses.

Reçu pour publication en octobre 1979.

(*) Une telle sélection ne paraîtra pas sérieuse aux esprits dépourvus d'originalité. Elle aurait cependant été entreprise avec quelques succès aux États-Unis par un sélectionneur de la firme Northrup King (propos recueillis auprès du D^r Low, C.S.I.R.O. à Griffith, Australie).

Summary

Studies of genetical means of improving the fructification of sunflower (Helianthus annuus L.)

Variation of the fructification rate according to the site of the floret and the orientation of the head

Successful fructification depends not only on pollination but also on a satisfactory growth of the embryo up to the ripe achene. This growth varies with variation of the internal and external environments. Two experiments concerning this are presented here.

Experiment n° 1 : Variation of the fructification rate with the site of the floret on the head : five cultivars (« Mirasol », « Balkan », « Peredovik », « Stadium » and « Gizeh ») received the three following treatments (10 plants/treat./var.) :

T, (control), open pollinated,

A, daily aided selfing under paper bags,

B, daily aided crossing with a mixture of foreign pollen, under paper bags.

Table 1 shows the high p. 100 fructification in open pollination and little difference between cultivars and between zones (zones indicated in fig. 1).

Under paper bags, with either kind of pollen, the fructification is sharply reduced but chiefly in the N part of the heads (tables 2 and 3). It clearly appears that the Egyptian cultivar, « Gizeh », suffers most the difficult climate inside the bag (tables 2 and 3). Table 4 gives the p. 100 fructification under bags with foreign pollen (col. 2) and self pollen (col. 4). The relative differences (col. 6) show a very good self compatibility of « Mirasol ».

Table 5 shows opposite results for the N and S parts with foreign pollen (col. 2) as with self pollen (col. 4). The opposite results independent of the kind of pollen, might indicate that the bag condition troubles the fructification mainly through embryo growth : the relative differences due to the pollen are the same in all parts of the head (col. 6 and 5).

Experiment n° 2 : The fructification according to the angle and the orientation of the head.

A male sterile F_1 hybrid was used giving 6 similar groups of 5 plants. Each group received the treatments given in fig. 3, and were allowed to be open pollinated. The N and S parts of the head were compared in each case.

The p. 100 fructification after counting of the flowers was exceptionally high (table 6). Nevertheless, the light difference between N and S is significant. As to the treatments, the variation is chiefly due to « C », a too great constraining treatment.

Dividing the results from quarter N by those from quarter S, for each head, gives comparisons as percentages. Table 7 gives such percentage for yield and its components. The control, T, yields less in the N part than in the S part because of less fertile flowers. This tendency is accentuated for treatment « A » and « a », (head facing the sun) chiefly by reducing the weight of the achene and increasing the number of empty achenes in part N. Treatment « B » and « b », (back facing the sun) gives in the N part the same yields as in the S part, although with lighter achenes. In any case, (except, « T »), the achenes from S are heavier (table 8).

The mean weights of the achenes for each treatment (tabl. 8) do not differ significantly.

The achenes from the two opposite sides of the head were also compared, (table 9), for some characters p. 100 husk, oil p. 100 achene, oil p. 100 kernel, and protein content). On average, in the N part, the achenes are lighter with less p. 100 kernel and oil content. This general tendency is accentuated for treatment « A » (facing the sun). But sectioning of some of the vessels (treatment « a ») reduces oil content in the kernels from the S part.

Correlation coefficients were calculated for 100 achene-weight; p. 100 husk, and p. 100 oil in the kernel. It appears that, in the N part, the decrease of 100 achene-weight is due to the increase of p. 100 husk ($r = -0,567$ H.S.). In the S part. ($r = +0,235$ N.S.) the weight of the achene is related to its size.

Références bibliographiques

- LENCREROT P., DECAU J., PUECH J., 1977. Évolution des teneurs en huile et en protéines des grains de Tournesol (*Helianthus annuus* L.) diversement alimentés en azote, selon leur position sur le capitule et leur âge physiologique. *C. R. Séances Acad. Sci.*, D, **284** (11), 907-910.
- PATIL V. A., BANGAL D. B., GOSWAMI P. B., 1976. A note on interfloret competition in sunflower. *Indian J. Plant. Physiol.*, **19** (1), 28-31.
- SEGALA A., SEGALA Martine, PIQUEMAL G., 1980. Recherches en vue d'améliorer le degré d'autogamie des cultivars de Tournesol (*Helianthus annuus* L.) : I. L'autogamie et l'auto-compatibilité pollinique. *Ann. Amélior. Plantes*, **30** (2), 151-159.
- SEETHARAM A. S., KUSUMAKUMARI P., SINDAGI S. S., 1977. Note on the immediate influence of pollen on seed weight and oil content in sunflower. *Indian J. agric. Sci.*, **47** (5), 262-263.
- SINDAGI S. S., 1978. Poor seed set in sunflowers and mean to alleviate it. *Sunflower-Newsletter*, **2** (3), 10-13.
- THOMSON T. E., FICK G. N., CEDENO J. R. Maternal control of seed oil percentage in sunflower (à publier).
- VRANCEANU A., 1974. *Florea-soarelui*. Edit. Ac. R. Soc. România.
-

Étude de l'haploïdie chez le Colza (*Brassica napus* L. var *oleifera* Metzger)

M. RENARD et Françoise DOSBA

avec la collaboration technique de Frédérique EBER et X. TANGUY

Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.,
Domaine de la Motte au Vicomte,
35650 Le Rheu

Résumé

Chez le Colza (*B. napus*), des haploïdes peuvent être obtenus naturellement ou à partir de cultures d'anthères. En pépinière, les haploïdes naturels se distinguent des diploïdes par différents caractères morphologiques notamment au niveau des inflorescences (fig. 1, tabl. 3); leur fréquence est proche de 1 p. 1 000 (tabl. 4). L'analyse cytogénétique réalisée sur ce matériel, fait apparaître un taux élevé d'appariements homéologues (fig. 4, tabl. 5). Deux types de comportements méiotiques qui diffèrent significativement par le nombre moyen de bivalents en anneaux ont été mis en évidence chez les haploïdes (tabl. 6). Le rendement en embryons obtenus par culture d'anthères de Colza est voisin de 2 p. 100 pour les Colzas d'hiver et de 10 p. 100 pour les Colzas de printemps (fig. 3, tabl. 7). Ces embryons donnent très souvent des plantes diploïdes mais également haploïdes, triploïdes et aneuploïdes (tabl. 8). Les conditions assurant une bonne répétabilité restent à préciser. Cependant le rendement assez élevé en plantes haploïdes par l'une ou l'autre technique permet d'envisager l'utilisation de l'haploïdie dans la sélection du Colza.

I. — Introduction

La production et l'étude des haploïdes chez différentes espèces a fait l'objet de travaux importants au cours de ces quinze dernières années (COLLINS, 1977). Ainsi le matériel haploïde peut être à l'origine d'une variabilité intéressante induite par mutagenèse, en travaillant sur des effectifs importants (microspores ou cellules somatiques) et en permettant la sélection de mutations récessives (MONDEIL, 1974; CARLSON, 1970). Certains auteurs ont également noté une augmentation de la variabilité au niveau des haploïdes doublés par rapport aux lignées pures dont ils sont issus (BURK et MARZINGER, 1976; de PAEPE et PERNES, 1978; PICARD, 1978). Par ailleurs les études cytogénétiques des haploïdes contribuent

à la connaissance des relations génomiques chez les espèces polyploïdes (RILEY et LAW, 1965); elles facilitent l'analyse des caryotypes (MAIZONNIER, 1971) et peuvent aussi aboutir à la création de séries aneuploïdes (POCHARD, 1970), qui sont utiles notamment pour les localisations géniques et les transferts d'information génétique étrangère.

Les possibilités théoriques d'utilisation des haploïdes en amélioration des plantes ont été soulignées par GALLAIS (1978). Ce sont principalement l'obtention de l'état homozygote dans un cycle de sélection récurrente ou la création variétale. Mais l'application de l'haploïdie en sélection dépend surtout de la possibilité de produire des haploïdes en grande quantité.

Dans le genre *Brassica*, différentes méthodes d'obtention d'haploïdes sont actuellement envisagées :

Les croisements interspécifiques

La parthénogénèse haploïde a été signalée chez *B. napus* par croisement avec *B. campestris* (X, 1976). De même PRAKASH (1973 et 1974) rapporte la production d'haploïdes de *B. tournefortii* et de *B. nigra* après croisement avec respectivement *B. nigra* et *B. campestris*.

L'haploïdie naturelle

Des plantes haploïdes peuvent apparaître spontanément dans un champ de Colza (THOMPSON, 1969 et 1975). Nous avons recherché de tels haploïdes naturels dans les pépinières de Colza d'hiver et de Colza de printemps en vue d'effectuer une analyse cytogénétique comparative des haploïdes et diploïdes correspondants.

La culture d'anthères

L'obtention d'embryons haploïdes à partir de culture d'anthères de *Brassica* a été rapportée par certains auteurs (tabl. 1). Les principaux travaux ont été réalisés sur *B. napus* (THOMAS et WENZEL, 1975; WENZEL *et al.*, 1977; KELLER et ARMSTRONG, 1977 et B. HANSSON, 1978). Il semble que le rendement soit nettement supérieur avec les génotypes de type printemps. KELLER et ARMSTRONG (1978) ont augmenté ce rendement en cultivant les anthères à 30 °C à l'obscurité pendant 14 jours avant la phase de culture à 25 °C en éclaircissement continu. Le passage à 35 °C pendant 1 à 3 jours accroît également le rendement chez *B. campestris* (KELLER et ARMSTRONG, 1979). PAGNIEZ (com. pers.) a obtenu des embryons à partir de culture d'anthères de *B. campestris* var *pekinensis*. En ce qui concerne *B. oleracea*, KAMEYA et HINATA (1970) auraient régénéré des plantes haploïdes à partir de cals haploïdes obtenus en cultivant des anthères mûres; par contre C. DORÉ (com. pers.) et KELLER (com. pers.) ont obtenu des plantes par culture d'anthères de Chou en faisant le prélèvement avant la première mitose pollinique.

Nous avons pratiqué la culture d'anthères de plusieurs types de Colza et testé différentes conditions de culture des embryons obtenus. Nous décrivons les méthodes utilisées et les problèmes rencontrés au cours des différentes étapes de cette étude.

TABLEAU I

Résultats optima obtenus par culture d'anthères ou de pollen de Brassica
Optimal results obtained by anther or pollen culture in Brassica

Espèces	Variétés	Nombre d'anthères	Nombre d'embryons / 100 anthères	Références
<i>B. campestris</i> . . .	Tower × R 500 . .	2 460	15,3	KELLER et ARMSTRONG (1979)
	<i>Pekinensis</i>	436	15,1	PAGNIEZ (com. pers.)
<i>B. oleracea</i>	Murasaki	105	6,7	KAMEYA et HINATA (1970)
	Kanvan		(cals)	
<i>B. napus</i> hiver	KWS lignée 24/72	48 222	0,9	WENZEL <i>et al.</i> (1977)
printemps	Tower	1 620	60,7	KELLER <i>et al.</i> (1978)

II. — Matériel et méthodes

I. — Haploïdie naturelle

I.1. Matériel végétal

Le matériel utilisé dans cette étude provenait soit de la pépinière de Colza d'hiver implantée en septembre 1978, soit de la pépinière de Colza de printemps semée en mars 1979. Les plantes haploïdes ont été déterminées en fonction de leur phénotype en début de floraison. Des mesures de longueur et de largeur des boutons et des pétales ont été effectuées sur des plantes haploïdes et diploïdes de la variété française de Colza d'hiver « Primor ». La fréquence des haploïdes a pu être établie pour certains génotypes dont l'effectif était plus important.

I.2. Multiplication végétative in vitro

Les plantes haploïdes sélectionnées ont été maintenues et multipliées *in vitro* selon une technique proche de celle utilisée par KARTHA *et al.* (1974) et STRINGAM (1977). Des segments d'inflorescence de 5 cm de longueur sont prélevés sur la plante. Après stérilisation par trempage dans l'éthanol à 70 p. 100 puis dans l'hypochlorite de calcium à 3 p. 100 pendant 10 minutes, les segments sont rincés trois fois à l'eau distillée puis mis en culture en tube sous forme de fragments de 4 à 5 mm de long. Le milieu de culture utilisé est celui de MURASHIGE et SKOOG modifié par MONNIER (1974) contenant 2 p. 100 de sucre et 1.0 mg/l de BA. Il est autoclavé 20 mn à 110 °C. Les fragments d'inflorescence sont cultivés dans une chambre de culture avec 16 heures d'éclairement sous des lampes à vapeur de mercure (400 W) donnant une intensité lumineuse de 8 000 lux au niveau des tubes. Les températures de jour et de nuit sont respectivement 25 °C et 20 °C. Les bourgeons néoformés sont ensuite transplantés sur un milieu d'enracinement (milieu de MONNIER dilué 2 fois + 0.2 mg/l de ANA). Les plantules sont repiquées en mini-serre dès que l'enracinement est suffisant.

1.3. Méthodes cytologiques

Le dénombrement des chromosomes est réalisé à partir des méristèmes racinaires selon une méthode couramment utilisée chez les céréales (DOSBA et DOUSINAULT, 1978) et légèrement modifiée par Y. CAUDERON (com. pers.) l'hydrolyse dans l'acide chlorhydrique IN à 60 °C a lieu pendant 6 à 9 mn, et les méristèmes racinaires, après un passage dans le réactif de Schiff pendant une durée optimale de 30 à 45 mn, sont stockés dans l'eau.

Chez les cellules mères du pollen, la détermination du stade métaphase I est réalisée par l'observation d'une étamine écrasée dans une goutte de carmin acétique et prélevée sur un bouton floral de 1 à 2 mm de longueur. Si les cellules sont au stade recherché, le reste du bouton est fixé dans le Carnoy additionné de perchlorure de fer pendant 48 heures puis rincé et stocké dans l'alcool à 70°. Le comportement méiotique est généralement analysé à partir de 50 cellules observées sur un frottis d'étamines dans le carmin acétique ferreux.

2. — Culture d'anthères

2.1. Matériel végétal

Les cultures d'anthères sont réalisées du mois d'octobre 1978 au mois de juillet 1979 sur le matériel suivant :

- une lignée de Colza d'hiver précoce sans acide érucique (« Kid ») jusqu'au mois de novembre;

- deux hybrides F₁ de Colza d'hiver entre un Colza à faible teneur en glucosinolates et sans acide érucique (L. 373) et deux lignées à teneur normale en glucosinolates et sans acide érucique (Jet Neuf et R. 30) de février à juin;

- un Colza de printemps canadien (« Tower ») sans acide érucique et à faible teneur en glucosinolates de décembre à juillet. Cette variété a été utilisée dans les expériences réalisées par KELLER et ARMSTRONG (1978);

- un hybride F₁ entre deux lignées de Colza de printemps « Orpal » et « Bronowski » D. 4 (celle-ci ayant une très faible teneur en glucosinolates) en juin.

2.2. Conditions de culture des plantes donneuses

Les plantes sont cultivées en serre dans des pots de 22 cm. La température varie de 18 °C à 25 °C en hiver et de 20 °C à 30 °C en été. La photopériode est de 16 heures avec un complément par éclairage artificiel apporté par des lampes donnant environ 10 000 lux à 1 mètre. Les Colzas d'hiver sont vernalisés à 4-5 °C au stade 5 feuilles vraies pendant 8 semaines. Une solution nutritive (GAMBORD et WETTER, 1975) est apportée une fois par semaine.

2.3. Prélèvement des boutons

Les boutons sont prélevés pendant toute la floraison de la plante à partir de l'apparition des premières fleurs sur l'ensemble des plantes. La désinfection est effectuée par trempage des boutons pendant 3 mn dans une solution d'hypochlorite de Ca à 3,5 p. 100. Les boutons sont rincés trois fois à l'eau distillée avant la mise en culture.

2.4. Culture des anthères et des embryons

Les anthères sont mises en culture le jour du prélèvement ou après conservation à 4 °C en conditions humides pendant au maximum 4 jours. Les anthères sont prélevées au stade précédant la première mitose pollinique. La taille des boutons est de l'ordre de 2,5 à 3 mm, la longueur des pétales est égale à la moitié de celle des boutons.

TABLEAU 2

Milieux utilisés pour les cultures d'anthères et d'embryons
Media used in anther and embryo cultures

	GAMBORD B5 modifié par KELLER	MURASHIGE et SKOOG modifié par MONNIER	LINSMAIER et SKOOG
Macro éléments : mg/l			
K NO ₃	2 500	1 900	1 900
CaCl ₂ , 2H ₂ O	750	880	440
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	250	370	370
K H ₂ PO ₄		170	170
(NH ₄) ₂ SO ₄	134		
Na H ₂ PO ₄ , H ₂ O	150		
KCl		350	
NH ₄ NO ₃		825	1 650
Micro éléments : mg/l			
KI	0,75	1,66	0,83
H ₃ BO ₃	3	12,4	6,2
Mn SO ₄ , 2H ₂ O	10		
Mn SO ₄ , 4H ₂ O		33,5	22,3
Zn SO ₄ , 7H ₂ O	2	21	
Zn SO ₄ , 4H ₂ O			8,6
Na ₂ Mo O ₄ , 2H ₂ O	0,25	0,5	0,25
Cu SO ₄ , 5H ₂ O	0,025	0,05	0,025
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,025	0,05	0,025
Na ₂ EDTA	37,3	14,9	37,3
Fe SO ₄ , 7H ₂ O	27,8	11,1	27,8
Mannitol : mg/l			45,5
Inositol	100		
Acide nicotinique	1		
Pyridoxine acide	1	0,1	
Thiamine acide	10	0,1	
2.4.D.	0,1		0,25
Kinetine			1,00
Glutamine	800	400	
GA ₃			1,00
ANA	0,1		
Serine	100		
Sucre g/l	100	50 ou 20	30

La mise en culture se fait en conditions aseptiques sous une hotte à flux laminaire. Les anthères de 3 boutons sont disposées dans une boîte de Pétri de 55 mm contenant le milieu nutritif solidifié (0,7 % agar) et fermée à l'aide de film de paraffine. Le milieu de culture utilisé est le milieu B 5 de Gamborg modifié par KELLER *et al* (1975) avec 10 p. 100 de sucre (tabl. 2).

Les boîtes de Pétri sont placées à 30 °C pendant 14 jours à l'obscurité puis à 25 °C dans une armoire de culture éclairée par des tubes fluorescents fournissant une intensité lumineuse de 3 000 à 5 000 lux. Dès leur apparition, les embryons sont repiqués en boîte de Pétri de 55 mm sur le milieu de MONNIER (1974) à 5 p. 100 de sucre (tabl. 2). Quand les embryons atteignent une taille d'environ 5 mm de long, ils sont transplantés en tubes sur le même milieu contenant 2 p. 100 de sucre et placés dans une chambre de culture. La température est de 25 °C le jour et 20 °C la nuit et une photopériode de 16 heures est assurée par des lampes à vapeur de mercure (8 000 lux au niveau des tubes). Lorsque l'enracinement est jugé suffisant, les plantules sont repiquées en miniserre.

III. — Résultats et discussion

I. — Haploïdes naturels

I.1. Fréquence des haploïdes spontanés

Il est aisé de distinguer les plantes haploïdes dans une parcelle de Colza. En effet, elles présentent en début de floraison des feuilles plus étroites, des inflorescences avec des boutons plus petits ainsi que des fleurs plus petites ne produisant pas de pollen (fig. 1). Les mesures faites sur la variété « Primor » (tabl. 3) montrent une différence très nette entre haploïdes et diploïdes quant à la taille des boutons mais surtout des pétales. Les haploïdes se sont révélés plus tardifs en général.

TABLEAU 3

*Longueur et largeur moyennes des boutons
et des pétales de plantes haploïdes et diploïdes de « Primor » (en mm)*
*Mean length and width of buds and petals in haploid and diploid plants
of « Primor » (mm)*

Niveau de ploïdie Effectifs	Haploïdes 69	Diploïdes 50
Boutons		
Longueur	5,25 ± 0,08	6,73 ± 0,23
Largeur	2,32 ± 0,06	3,67 ± 0,12
Pétales		
Longueur	9,73 ± 0,29	14,05 ± 0,37
Largeur	5,11 ± 0,21	8,96 ± 0,18



FIG. 1. — *Haploïde naturel de B. napus.*

La fréquence moyenne des haploïdes estimée sur les différents génotypes est d'environ 0,85 p. 1 000 pour les Colzas d'hiver et 1 p. 1 000 pour les Colzas de printemps. Les fréquences observées sont du même ordre de grandeur que celles obtenues par THOMPSON (1975) et STRINGAM et DOWNEY (1973). Il semble également que les variétés d'origine canadienne présentent une fréquence plus élevée par rapport à celles d'origine européenne (tabl. 4). Ces résultats devront être confirmés sur des effectifs plus importants.

1.2. Régénération à partir de segments d'inflorescence

On observe sur les segments un gonflement des tissus en contact avec le milieu au bout de 10 jours. Les premiers bourgeons apparaissent sur la partie basale du segment à partir de la 3^e semaine. Chaque bouture peut donner 5 à 10 bourgeons. Le nombre et la vitesse d'apparition des bourgeons diminuent en fin de floraison.

TABLEAU 4

Fréquence des haploïdes dans quelques variétés de Colza d'hiver et de printemps
Haploid frequency in winter and spring rape varieties

Génotypes	Nombre de plantes	Nombre d'haploïdes	Fréquence des haploïdes pour 1 000 plantes
<i>Colza d'hiver</i>			
« Primor »	2 330	6	2,6
Ensemble de la pépinière . .	25 800	22	0,85
<i>Colza de printemps</i>			
<i>Variétés canadiennes</i>			
« Tower »	934	3	4,3
« Regent »	1 097	7	6,4
« Midas »	779	2	2,6
<i>Variétés européennes</i>			
« Protà »	1 278	6	4,7
« Petranova »	712	1	1,4
Ensemble de la pépinière . .	19 700	20	1,02

de la plante haploïde. Les bourgeons repiqués sur le milieu de MONNIER additionné d'acide naphthalèneacétique s'enracinent en 3 à 4 semaines. Les plantules peuvent alors être repiquées. Il est possible de réaliser plusieurs cycles (2 à 3) de multiplication végétative avant le passage sur le milieu d'enracinement.

1.3. Analyse cytogénétique

L'analyse du comportement méiotique des haploïdes (tabl. 5), fait apparaître un nombre important d'appariements chromosomiques sous forme de bivalents (en moyenne 3,60 à 6,33 selon les origines) ou de multivalents (0,46 à 1,28) (fig. 2). Ces derniers sont généralement absents chez les diploïdes.

Sur 373 cellules haploïdes analysées, aucune ne présente 19 univalents, 2 et 5 cellules ont respectivement 15 et 13 univalents, le taux d'autosyndèse est donc très élevé et se traduit par un nombre important de chiasmata par chromosome (0,31 à 0,60) alors qu'il oscille chez les diploïdes correspondants entre 0,88 et 0,90. Le pourcentage de chromosomes appariés est également élevé (48,95 à 83,77); il avoisine 100 chez les diploïdes. Une analyse de variance à effectifs variés (d'après KRAMER, 1956) calculé à partir des plantes chez lesquelles on a pu observer au moins 25 cellules, permet de mettre en évidence deux types distincts de comportements méiotiques (tabl. 6). Le type I présente un faible taux d'appariement : 6,68 univalents et 4,91 bivalents en moyenne. Le type II à taux élevé d'appariement est caractérisé par un nombre moyen d'univalents plus faible et un nombre moyen de bivalents plus élevé. Il n'y a pas de différence significative entre les deux types ni pour le nombre de multivalents ni pour le nombre moyen de biva-

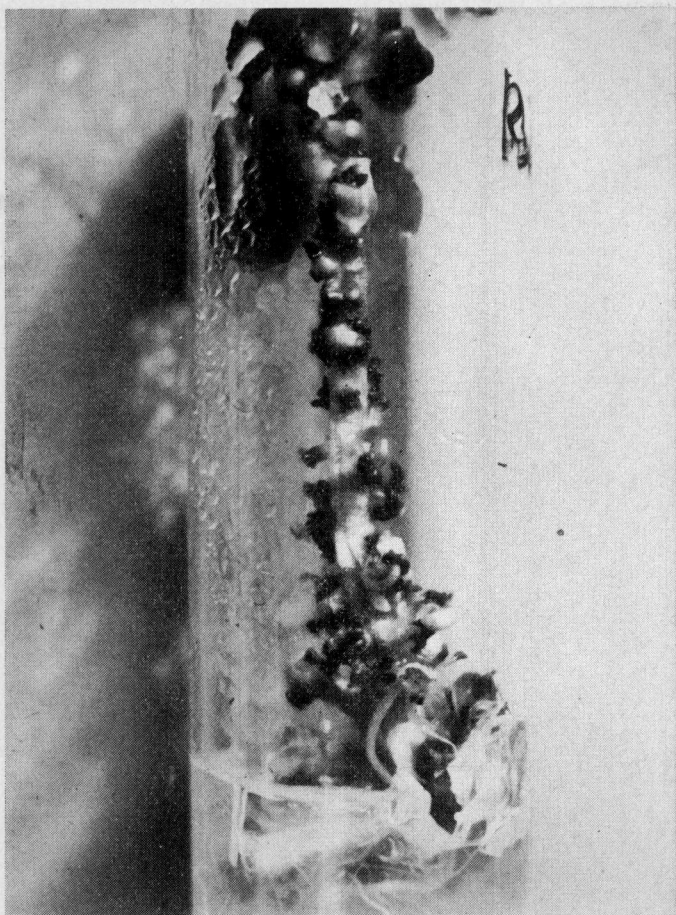


FIG. 2. — Formation d'embryons somatiques sur l'hypocotyle.

lents droits (3,43 à 3,85). Par contre, le nombre moyen de bivalents en anneaux est significativement plus élevé dans le type II que dans le type I. L'homéologie entre les chromosomes paraît renforcée dans le type II.

Cette différence dans le comportement méiotique des haploïdes est intéressante mais difficilement explicable : on pourrait penser qu'elle est liée en partie au nombre de cellules observées (50 à 83 pour le type I, 25 à 30 pour le type II). Toutefois les haploïdes de « Petranova » et de « Regent » (10 et 12 cellules observées) se situent respectivement dans le type I et le type II. Des différences significatives dans le nombre moyen de bivalents par cellule ont été également signalées par MURSAL (1978) chez des haploïdes de Cotonnier en métaphase I. Ce même auteur a remarqué par ailleurs, que les appariements homéologues les plus nombreux sont observés au stade pachytène et diminuent d'environ 20 p. 100 au stade métaphase I. Il semblerait donc intéressant d'analyser également les stades prophasiques chez les Colzas haploïdes.

Si l'on compare nos résultats à ceux obtenus par MORINAGA et FUKUSHIMA (1933) ou OLSSON et HAGBERG (1955), les nombres moyens de bivalents analysés

TABLEAU 5

Comportement méiotique de plantes haploïdes ($2n = 19$) ou diploïdes ($2n = 38$) de Colza. — Mean meiotic pairing in haploid or diploid rapeseeds

	Nombre de cellules observées	I	II	II <i>d</i>	II <i>a</i>	III	IV	Autres multi- valents	Nombre de chiasmata / chromo- some	% de chro- mosomes appariés
<i>Haploïdes</i>										
« Petranova » .	10	(1) 9,7 (2) 4-15	3,60 2-6	2,90 2-5	0,70 0-1	0,30 0-1	0,40 0-1		0,31	48,95
« Regina » . . .	50	6,93 2-13	4,86 1-8	3,22 1-6	1,64 0-5	0,58 0-2	0,14 0-1		0,43	57,09
« Jet Neuf » . .	83	6,86 1-12	4,59 1-7	3,00 1-6	1,59 0-5	0,48 0-2	0,36 0-1	0,01 0-1	0,43	63,85
« Primor » . . .	73	6,84 0-15	4,94 1-8	3,89 1-7	1,05 0-3	0,34 0-3	0,28 0-2	0,01 0-1	0,40	63,95
« Bronowski » .	60	6,05 2-11	5,27 2-8	3,62 0-5	1,65 0-4	0,28 0-1	0,35 0-2	0,03 0-1	0,46	68,16
« Crésor » . . .	30	4,80 2-12	6,33 2-8	4,03 1-6	2,30 0-6	0,33 0-1	0,13 0-1		0,51	74,04
« Prota » . . .	30	3,97 1-11	6,33 2-9	3,93 2-7	2,40 0-5	0,30 0-1	0,37 0-1		0,56	79,12
« Tower » . . .	25	3,32 1-6	5,64 3-9	3,60 1-5	2,04 0-5	0,76 0-3	0,48 0-3	0,04 0-1	0,57	82,53
« Regent » . . .	12	3,08 1-5	5,67 3-8	3,25 1-5	2,42 1-4	0,75 0-2	0,14 0-1		0,60	83,77
<i>Diploïdes</i>										
« Regina » . . .	50	0,44 0-4	18,50 17-19	4,30 1-7	14,20 11-18		0,14 0-1		0,88	98,84
« Bronowski » .	50	0,24 0-4	18,88 17-19	3,52 0-8	15,36 11-19				0,90	99,37
« Prota » . . .	55	0,20 0-2	18,65 17-19	3,71 0-6	14,94 10-18	0,02 0-1	0,11 0-1		0,90	99,47
« Tower » . . .	70	0,17 0-4	18,77 17-19	3,94 1-8	14,83 11-18		0,07 0-1		0,90	99,55

I = univalent

II = bivalent

III = trivalent

IV = quadrivalent

d : droit*a* : anneau

(1) = moyenne

(2) = extrêmes

Nombre de chiasmata par chromosome = $\frac{\text{nombre de chiasmata par cellule}}{\text{nombre de chromosomes}}$.

sont similaires. Les premiers auteurs trouvent jusqu'à sept bivalents par cellule alors que les seconds ont obtenu à partir de 4 plantes et 100 cellules, une moyenne de 6,07 bivalents. Cependant aucun des auteurs ne signale la présence de multivalents dont la fréquence est assez importante dans notre matériel (tabl. 5). La différence au niveau des observations pour le nombre moyen de multivalents peut être due à trois facteurs. Tout d'abord la difficulté d'observation des cellules mères du pollen chez le Colza peut expliquer le fait que certaines figures méiotiques n'aient pu être identifiées avec certitude. La taille des échantillons peut aussi intervenir; cependant lorsque nous avons observé une dizaine de cellules, la fréquence des multivalents n'est pas négligeable. Enfin l'origine du matériel peut être en cause. Notons à ce propos, que pour les haploïdes analysés antérieurement par les différents auteurs (vraisemblablement issus de Colza de printemps) le

TABLEAU 6

Comparaison des comportements méiotiques moyens des haploïdes et des diploïdes
Comparison of mean meiotic pairing in haploid (high level and low level) and diploid rape

Type	Nombre de plantes	Nombre de cellules	I	II	IIa	Multi-valents	Nombre de chiasm / chromosomes
<i>Haploïdes</i>							
type I	4	266	(1) 6,68 (2) 0-15	4,91 1-8	1,48 0-5	0,71 0-2	0,43
type II	3	85	4,11 1-12	6,11 2-9	2,25 0-6	0,77 0-3	0,54
<i>Diploïdes</i>	4	225	0,26 0-4	18,70 17-19	14,83 10-19	0,08 0-1	0,89

I = univalents

II = bivalents

IIa = bivalents en anneaux

(1) = moyenne

(2) = extrêmes.

taux d'appariement des chromosomes est proche de celui du type II constitué uniquement d'haploïdes de Colzas de printemps (tabl. 6). Dans le type I on trouve des haploïdes obtenus à la fois à partir de Colzas de printemps et à partir de Colzas d'hiver.

2. — Obtention d'haploïdes par culture d'anthers

2.1. Apparition des embryons

Les anthers légèrement jaunes au moment du prélèvement brunissent. Les tissus de l'anthere éclatent laissant sortir de jeunes embryons au stade pince ou torpille mais parfois également des embryoides au stade globulaire. Les premiers

embryons apparaissent entre le 14^e et le 21^e jour avec en général un maximum le 21^e jour. La production s'étale parfois jusqu'à la 5^e semaine. Les embryoïdes sont de forme ovoïde et leur couleur varie du blanc au jaune. Les embryons par contre sont généralement verts et atteignent en une semaine une taille voisine de celle de l'anthere (fig. 3).

2.2. Rendement de la culture d'anthers

Le rendement exprimé en nombre d'embryons viables pour cent anthers mises en culture varie en fonction du génotype (tabl. 7) et de la date de prélèvement. Le pourcentage est plus élevé avec les Colzas de printemps. On trouve en effet

TABLEAU 7

Efficacité de la culture d'anthers de Colza
Efficiency of anther culture in rape

Génotypes	Nombre d'anthers	Nombre d'embryons	Pourcentage d'anthers embryogènes	Nombre d'embryons par anthere embryogène	Nombre d'embryons pour 100 anthers
<i>Types hiver</i>					
« Jet Neuf » × L. 373	4 854	69	0,9	1,6	1,4
R. 30 × L. 373 . . .	5 692	119	0,9	2,3	2,1
<i>Types printemps</i>					
« Tower »	774	101	4,0	3,3	13,1
« Orpal » × « Bronowski »	1 314	161	5,1	2,4	12,3

13,1 embryons pour cent anthers mises en culture avec la variété « Tower » et 12,3 avec l'hybride « Orpal » × « Bronowski ». Par contre le rendement est nettement plus faible pour le matériel hiver testé: 1,4 pour l'hybride « Jet Neuf » × L. 373 et 2,1 pour l'hybride R. 30 × L. 373. Cette différence s'explique principalement par un pourcentage plus élevé d'anthers embryogènes chez les types printemps (tabl. 7).

L'absence de répétabilité des expériences n'a pas permis de mettre en évidence un effet de la teneur en sucre du milieu de culture ou de la température sur le rendement. La non-répétabilité observée peut s'expliquer d'une part par la variation du stade du pollen pour une même taille de bouton d'autre part un contrôle imprécis des conditions de culture des plantes en serre. De nombreux auteurs ont montré l'influence des conditions de culture des plantes donneuses sur le nombre d'embryons obtenus (SUNDERLAND, 1974). Nos conditions de travail en serre n'ont pas permis d'avoir une quantité de lumière suffisante pour éviter l'étiollement des plantes en hiver. Ceci expliquerait que sur 6 000 anthers mises en culture entre novembre et janvier, nous n'ayons obtenu que 6 embryons à partir d'une seule

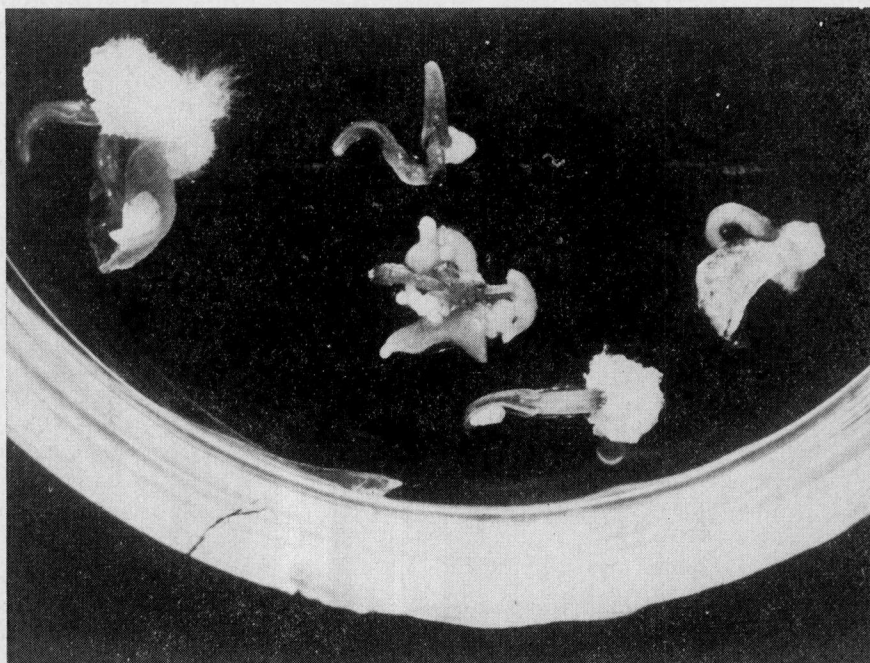


FIG. 3. — Production d'embryons par culture d'anthers de *B. napus*.



FIG. 4.

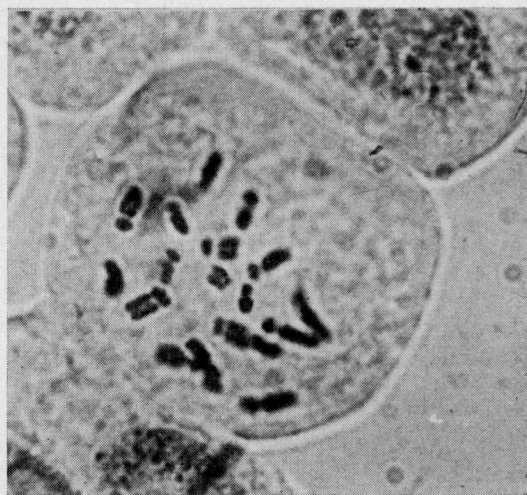


FIG. 5.

FIG. 4. — Métaphase I d'haploïde naturel de *B. napus* var « Tower » ($1' + 2'' + 3'''$)

FIG. 5. — Mitose de plante haploïde de *B. napus*.

anthère embryogène de la variété « Kid ». Selon KELLER (com. pers.), les conditions optimales pour le Colza d'hiver seraient un éclairage continu (30 000 lux) et une température de 15 °C.

2.3. Culture des embryons

Il est rare que le développement des embryons soit tout à fait normal. En effet on observe souvent une croissance importante des cotylédons sans différenciation de l'apex ou un mauvais enracinement de la plantule et parfois des hypocotyles hypertrophiés sur lesquels apparaissent des embryons somatiques (fig. 2). Des plantules ont pu être régénérées à partir d'explantats d'hypocotyle cultivés sur le milieu de MONNIER contenant de la B.A. et de l'A.N.A.

THOMAS *et al.* (1976) a montré que les embryons somatiques apparus sur l'hypocotyle provenaient d'une cellule unique de l'épiderme. Ces embryons somatiques cultivés sur le milieu de MONNIER ou de LINSMAIER et SKOOG (tabl. 1) conservent cette aptitude embryogène et permettent ainsi de multiplier le génotype obtenu.

Sur l'ensemble des expériences réalisées, 52,1 p. 100 des embryons ont donné des plantules vivantes après repiquage en pleine terre. Le pourcentage de mortalité constaté au cours des différentes étapes est le suivant :

— 12,5 p. 100 des embryons ne croissent pas après repiquage du milieu de GAMBORG B 5 à 10 p. 100 de sucre sur le milieu de MONNIER à 5 p. 100 de sucre. Cette fraction est principalement représentée par les embryoïdes déficients chlorophylliens;

— 14,5 p. 100 ne supportent pas le deuxième repiquage sur le milieu de MONNIER à 2 p. 100 de sucre. Il s'agit généralement d'embryons encore très peu développés lors du premier repiquage;

— 17 p. 100 des plantules meurent après repiquage en miniserre en grande partie à cause d'un enracinement insuffisant ou d'une morphogénèse trop anormale. On observe cependant un rétablissement de cette morphogénèse dans certains cas.

2.4. Niveau de ploïdie

Nous avons estimé le nombre chromosomique de quelques plantules (obtenues directement sans multiplication végétative *in vitro* préalable) à partir de mitoses de méristèmes racinaires (tabl. 8). Ce comptage a révélé la présence de plantes haploïdes, diploïdes mais également triploïdes (fig. 5). Certaines plantes aneuploïdes avaient un nombre de chromosomes compris entre 19 et 38. Contrairement à KELLER et ARMSTRONG (1978) nous n'avons pas observé, dans ce matériel, de plantes tétraploïdes. La présence de diploïdes et triploïdes ne va pas à l'encontre de l'origine pollinique de ces plantes. Ce phénomène a été observé chez d'autres espèces (RAQUIN et PILET, 1972 et SUNDERLAND *et al.*, 1974) et proviendrait d'une endomitose ou d'une fusion nucléaire dans les premiers stades de division.

Deux embryons haploïdes de la variété « Kid » nous ont donné 15 boutures après 3 repiquages successifs sur le milieu de MONNIER additionné de B.A. Sur l'ensemble de ces boutures, 12 boutures ont conservé l'état haploïde, deux se sont diploïdisées totalement et une est mixoploïde.

TABLEAU 8

Nombre chromosomique de plantes obtenues par cultures d'anthères de Colza
Chromosome number of plants derived from rape anther culture

Génotypes	Haploïdes	Diploïdes	Triploïdes	Aneuploïdes
« Jet neuf » × L 373	5	14	3	8
R 30 × L 373	8	8	—	3

IV. — Conclusion

1. — Haploïdie naturelle

Nous confirmons les résultats de THOMPSON (1975) en ce qui concerne la fréquence élevée des haploïdes naturels chez certains génotypes de Colza. Les haploïdes ont pu être conservés par culture *in vitro* de segments d'inflorescences. Différentes méthodes de doublement chromosomique sont appliquées sur ce matériel. La descendance des haploïdes doublés sera suivie pour mettre en évidence un éventuel effet génétique sur la fréquence des haploïdes naturels.

L'analyse cytogénétique faite sur ces haploïdes a montré que le taux d'appariement chez les haploïdes de Colza apparaît nettement plus élevé que celui observé chez d'autres plantes allopolyploïdes telles que le Blé tendre (DOSBA *et al.*, 1979) ou l'Avoine (LEGGET, 1977). Ceci traduit une homéologie importante entre les chromosomes mis en présence, homéologie qui ne se manifeste pas au niveau diploïde (tabl. 5). Le degré d'appariement entre les deux génomes constitutifs du Colza est vraisemblablement plus élevé que celui existant chez la majorité des espèces allopolyploïdes. Par ailleurs, la structure autopolyploïde partielle des génomes constitutifs du Colza suggérée par ROBBELEN (1960) pourrait expliquer aussi la fréquence élevée des appariements.

Les différences de comportements méiotiques observées chez les haploïdes naturels pourraient s'expliquer par une différenciation plus ou moins grande des génomes constitutifs du Colza ou par un contrôle différent de l'appariement homéologue des chromosomes; ceci pourrait intervenir si, comme chez le Cotonnier (MURSAL et ENDRIZZI, 1976), l'A.D.N. répétitif a un rôle dans la formation des chiasmata. Les différences observées sont toutefois à confirmer à partir d'effectifs plus importants et à différents stades de la méiose. Les comportements méiotiques analysés révéleraient une diversité des possibilités de recombinaisons homéologues qu'il serait intéressant d'utiliser en sélection.

2. — Culture d'anthères

Nos résultats montrent que le rendement en embryons obtenus en utilisant la méthode préconisée par KELLER et ARMSTRONG (1978) est important. Le nombre d'embryons pour 100 anthères mises en culture est supérieur à 10 p. 100 pour les variétés de type printemps et voisin de 2 p. 100 pour les types hiver. Ces

embryons apparaissent rapidement (14-21^e jour) sans former de cal. La proportion élevée de plantules diploïdes spontanées (tabl. 8) permettra d'éviter en grande partie la phase de doublement à la colchicine. La culture *in vitro* d'explantats utilisée pour rétablir la morphogénèse des jeunes plantules permettra d'exploiter le doublement spontané observé lors de la multiplication végétative *in vitro* des plantules haploïdes de « Kid ».

Il reste cependant à préciser les conditions de culture qui pourraient augmenter le rendement en haploïdes et améliorer la morphogénèse des plantules. Il faut aussi déterminer les conditions de milieu assurant le meilleur état physiologique de la plante donneuse et préciser le stade de prélèvement des anthères afin d'obtenir une bonne répétabilité des meilleurs rendements. Les descendance des plantes obtenues seront étudiées au plan de l'homogénéité, de la fertilité et du comportement cytogénétique.

3. — Possibilités d'utilisation en sélection

Cependant le rendement assez élevé en haploïdes à partir de culture d'anthères ou d'haploïdes naturels nous permet d'envisager l'utilisation de cette méthode en sélection (fig. 6). L'haplodiploïdisation peut être ainsi utilisée pour fixer le

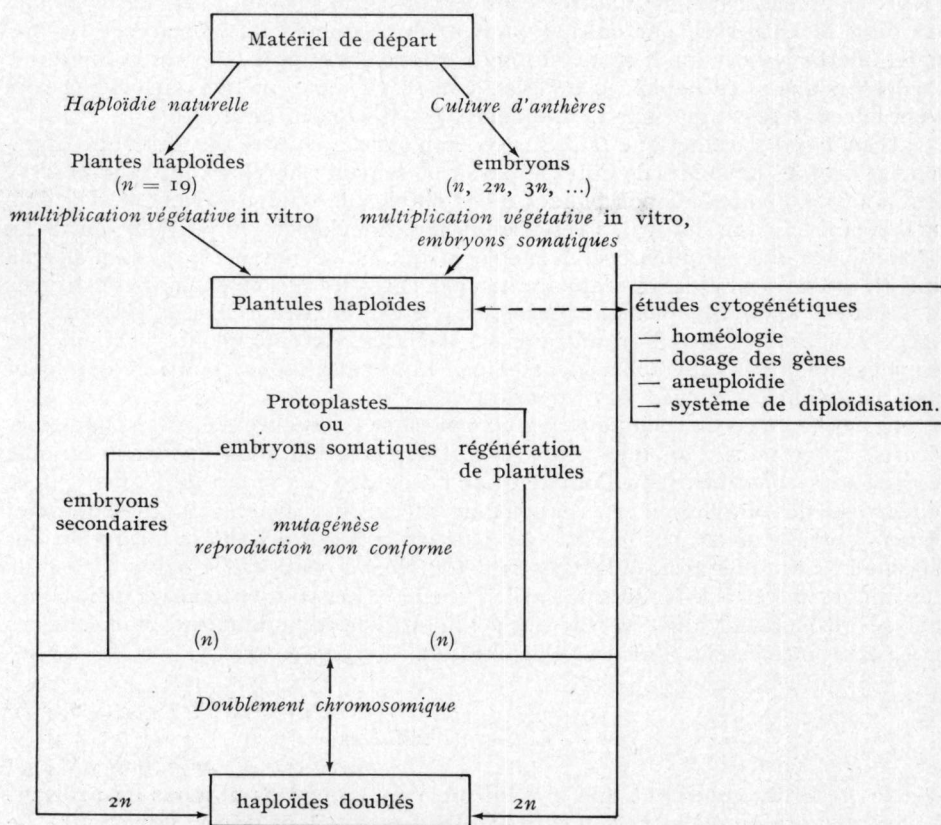


FIG. 6. — Utilisation de l'haploïdie dans l'amélioration du Colza
Use of haploidy in rape breeding

matériel pour la création variétale dans les programmes d'amélioration de la qualité du Colza et en particulier dans le schéma de sélection pour de faibles teneurs en glucosinolates dans le tourteau (MORICE, 1976). Une phase d'haplodiploïdisation pourra être incorporée après chaque rétrocroisement, la sélection pour de faibles teneurs étant faite sur les haploïdes et diploïdes obtenus.

Le matériel haploïde peut également servir d'outil pour extérioriser une variabilité (reproduction non conforme) ou l'augmenter (mutagénèse). La sélection de tels « mutants » pourrait être faite sur les embryons somatiques secondaires. On peut ainsi envisager d'utiliser cette méthode pour la sélection de clones résistants au Phoma (SACRISTAN, 1979). De plus la meilleure aptitude à la régénération des protoplastes issus des mêmes souches embryogènes (THOMAS *et al.*, 1976) peut également être utilisée.

Reçu pour publication en janvier 1980.

Remerciements

Nous tenons à remercier tout particulièrement Nicole ARNOULD pour l'aide qu'elle nous a apportée pendant son stage dans notre laboratoire ainsi que Claire DORÉ et G. PELLETIER qui ont accepté d'être les lecteurs de cet article.

Summary

Haploidy in rape

In the genus *Brassica*, haploids may be obtained from interspecific crosses, natural occurrence or anther culture. Naturally occurring haploids have narrower leaves than diploids and can be recognized in a field by the appearance of their inflorescences which have small buds (table 3) and pollen-sterile flowers. The frequency of haploids seems to be more important in Canadian spring cultivars than in European cultivars (table 4).

There generation of plantlets from haploid stem explants can be induced from the basal cut ends. Shoots are induced on MONNIER medium containing 1 mg/l benzyladenine and transferred to culture media with 0,2 mg/l naphthaleneacetic acid (table 2). During regeneration cycles, spontaneous diploidization can be observed.

The cytogenetical analysis of some haploid plants indicates a high level of homoeologous pairing (table 5); the mean number of bivalents ranges between 3.60 and 6.33 and this of multivalents between 0,46 and 1.28. Two groups of haploids (low and high pairing) show significant differences in their mean number of ring bivalents per cell (table 6).

Anthers of spring and winter cultivars of *Brassica napus* were cultured on the basic GAMBORG medium modified by KELLER (table 2). Petri dishes were incubated in the dark at 30 °C during 14 days and then moved to continuous light at 25 °C. Green embryoids were transferred to Petri dishes containing MONNIER medium with 5 % and then 2 % sucrose.

Morphogenesis is sometimes abnormal: some embryos are lacking the ability to produce a shoot system and differentiated embryos may appear on the hypocotyl surface of the anther derived embryos.

The frequency of embryogenic anthers and the expected number of embryos from 100 anthers are more important in spring cultivars (table 7). Cytological study revealed the presence of haploids, diploids, triploids and aneuploids (table 8). Diploids and triploids may be due to endoreduplication or nuclear fusion during early culture stages.

Références bibliographiques

- BENNET M. D., RAO M. R., SMITH J. B. et BAYLISS M. V., 1973. Cell development in the anther, the ovule and the young seed of *Triticum aestivum* L. var. Chinese spring Plul. *Trans. Royal. Soc. London Ser. B*, **266**, 39-81.
- BURK L. G. et MARZINGER D. F., 1976. Variation among anther derived doubled haploids from an inbred line of tobacco. *J. Heredity*, **67**, 381-384.
- CARLSON P. S., 1970. Induction and isolation of auxotrophic mutant in somatic cultures of *Nicotiana tabacum*. *Science*, **168**, 487-489.
- COLLINS G. B., 1977. Production and utilization of anther-derived haploids in Crop plants. *Crop Sci.*, **17**, (4), 383-586.
- DE PAEPE R. et PERNES J. Exemples de variations à hérédité mendélienne induites au cours du développement des plantes. *Physiol. vég.*, **168** (2), 195-204.
- DOSBA F. et DOUSSINAULT G., 1978. Création de lignées de blé présentant les caractéristiques agronomiques favorables d'*Aegilops ventricosa*. *Ann. Amélior. Plantes*, **28**, (1), 27-44.
- DOSBA F., TROTET M. et TANGUY A. M., 1979. Obtention d'haploïdes d'*Aegilops squarrosa* et de blé tendre à partir d'embryons doubles. *Sci. agron. Rennes*, 1-6.
- GALLAIS A., 1978. Place de l'haploïdie dans un schéma de sélection. *Sélec. Fr.*, **26**, 39-50.
- GAMBORG O. L. et WETTER L. M., 1975. *Plant tissue culture methods*. N.R.C.C., Saskatoon, p. 92.
- HANSSON B., 1978. Temperature shock a method of increasing the frequency of embryoid formation in anther culture of swede rape (*Brassica napus* L.) *Sver. Utsädesfören. Tidsk.*, **88**, (3), 141-148.
- KAMEYA T. et HINATA K., 1970. Induction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. *Japan J. breed.*, **20**, (2), 82-87.
- KARTHA K. K., GAMBORG O. L. et CONSTABEL F., 1974. In vitro plant formation from stem explants of rape (*Brassica napus* cv Zephyr). *Physiol. Plant* **31**, 217-220.
- KELLER W. A., RAJHATHY T. et LACAPRA J., 1975. In vitro production of plants from pollen in *Brassica campestris*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **17**, 655-666.
- KELLER W. A. et ARMSTRONG K. C., 1977. Embryogenesis and plant regeneration in *Brassica napus* anther cultures. *Can. J. Bot.*, **55**, 1383-1388.
- KELLER W. A. et ARMSTRONG K. C., 1978. High frequency production of microspore-derived plants from *Brassica napus* anther cultures. *Z. Pflanzenzucht.*, **86**, 100-108.
- KELLER W. A. et ARMSTRONG K. C., 1979. Stimulation of embryogenesis and haploid production in *Brassica campestris* anther cultures by elevated temperature treatments. *Theor. appl. Genet.*, **55**, 65-67.
- KRAMER C. Y., 1956. Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. *Biometrics*, 307-310.
- LEGGET J. M., 1977. The meiotic behaviour of aneupolyhaploids of the cultivated oat *Avena sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **19**, 651-656.
- MAIZONNIER D., 1971. Utilisation de plantes haploïdes pour l'analyse du caryogramme de *Petunia hybrida* Hort. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, (3), 257-264.
- MONDEIL F., 1974. Irradiation de microspores en cultures d'anthères : essai d'une nouvelle technique d'obtention de mutations immédiatement décelables et fixables (application à *Nicotiana tabacum*). *Ann. Amélior. Plantes*, **24**, (1), 1-11.
- MONNIER M., 1974. *Culture in vitro de l'embryon immature de Capsella Bursa pastoris Moennet*. Thèse de doctorat d'état es sciences naturelles (Paris VI).
- MORICE J. et RENARD M., 1976. Sélection pour les caractéristiques biochimiques chez les crucifères, colza et chou et chez les pavots à alcaloïdes. *Sélect. Fr.*, **22**, 15-31.
- MORINAGA T. et FUKUSHIMA E., 1933. Karyological studies on a spontaneous haploid mutant of *Brassica napella*. *Cytologia*, **4**, 457-460.
- MURSAL I. E. J. et ENDRIZZI J. E., 1976. A reexamination of diploid like meiotic behaviour of polyploid cotton. *Theor. appl. Genet.*, **47**, 171-178.
- MURSAL I. E. J., 1978. Chromosome association in haploids and species hybrids of *Cossypium*. *J. Hered.*, **69**, 413-416.
- OLSSON G. et HAGBERG A., 1955. Investigations on haploid rape. *Hereditas*, **45**, 227-237.

- PICARD E., 1978. Phénomènes nouveaux liés à l'haploïdie. *TDR* (*), **3**, 179-184.
- POCHARD E., 1970. Description des trisomiques du piment (*Capsicum annum* L.) obtenus dans la descendance d'une plante haploïde. *Ann. Amélior. Plantes*, **20** (2), 233-256.
- PRAKASH S., 1973. Haploidy in *Brassica nigra* Koch. *Euphytica* **22**, (3), 613-614.
- PRAKASH S., 1974. Haploid meiosis and origin of *Brassica tournefortii*. *Euphytica*, **23**, 591-595.
- RAQUIN C. et PILET V., 1972. Production de plantules à partir d'anthères de Pétunias cultivées *in vitro*. *C.R. Acad. Sci Paris*, **274**, 1019-1022.
- RILEY R. et LAW C. N., 1965. Genetic variation in chromosome pairing. *Adv. Genet.*, **13**, 57-114.
- ROBBELEN G., 1960. Beiträge zur analyse des *Brassica*-Genoms. *Chromosoma*, **11**, 205-228.
- SACRISTAN M. D., 1979. Attempts to obtain resistant plants against *Plasmodiophora brassicae* and *Phoma lingam* from selected lines tissue cultures of *Brassica napus*. *Eucarpia Cruciferae*. Wageningen.
- STRINGAM G. R. et DOWNEY R. K., 1973. Haploid frequencies in *Brassica napus*. *Can. J. Plant Sci.*, **53**, 229-231.
- STRINGAM G. R., 1977. Regeneration in stem explants of haploid rapeseed (*Brassica napus* L.) *Plant Sci. letters*, **9**, 115-119.
- SUNDERLAND N., 1974. Anther culture as a means of haploid induction. *Haploids in higher plants. Proc. of the 1st Intern. Symp.* June 10-14, University of Guelph, pp. 91-122.
- SUNDERLAND N., COLLINS G. B. et DUNWELL J. M., 1974. The role of nuclear fusion in pollen embryogenesis of *Datura innoxia* Mill. *Planta*, **117**, 227-241.
- THOMAS E. et WENZEL O., 1975. Embryogenesis from microspores of *Brassica napus*. *Z. Pflanzenzüchtg*, **74**, 77-81.
- THOMAS E., HOFFMANN F., POTRYKUS I. et WENZEL G., 1976. Protoplast regeneration and stem embryogenesis of haploid androgenetic rape. *Molec. gen. Genet.*, **145**, 245-247.
- THOMPSON K. F., 1969. Frequencies of haploids in spring oil-seed rape (*Brassica napus*). *Heredity*, **24**, 318-319.
- THOMPSON K. F., 1975. Homozygous diploid lines from naturally occurring haploids. *Proc. 4th Intern. Rapeseed Conf.* Giessen, 1974, pp. 119-124.
- WENZEL G., HOFFMAN F. et THOMAS E., 1977. Anther culture as a breeding tool in rape. I ploidy level and phenotype of androgenetic Plants. *Z. Pflanzenzüchtg*, **78**, 149-155.
- X, 1976. The study of the artificial induction of gynogenetic haploids of rape. *Acta Genet. Sin.*, **3**, 298.

(*) TDR, Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., à une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean Nicot, 75007 Paris, ou à l'auteur.

RÉSUMÉS DES EXPOSÉS PRÉSENTÉS A L'OCCASION
DE LA RÉUNION DU GROUPE DE TRAVAIL

**« Cytologie et Cytogénétique »
I.N.R.A. Amélioration des Plantes**

qui s'est tenue les 9 et 10 MAI 1979,

à la Station Fédérale de Recherches Agronomiques
de Changins (R.A.C.), Nyon (Suisse)

à l'invitation de Monsieur Rochaix, Directeur,
et de ses collaborateurs

Sélection d'hybrides *Lolium multiflorum* × *Festuca arundinacea*

S. BADOUX

Station fédérale de recherches agronomiques de Changins, CH-1260 Nyon (Suisse)

Des inflorescences de divers géotypes de Ray-grass d'Italie ont été castrées puis fécondées artificiellement par le pollen de populations de Fétuque élevée différant quant à leur origine et leur précocité. Des talles individuelles de plantes F_1 ($2n = 28$) ont ensuite été traitées par la colchicine en vue d'obtenir des amphidiploïdes fertiles.

Les hybrides sont assez semblables au parent Fétuque pour de nombreux caractères morphologiques tels le type d'inflorescence, la présence de poils sur les oreillettes et la forme des cellules de l'épiderme. Leur précocité est intermédiaire entre celles des parents. Les plantules s'installent lentement mais la productivité et la persistance sont bonnes. Certains descendants sont de meilleure qualité que la Fétuque (souplesse des feuilles, teneur en fibres, digestibilité). Les hybrides sont aussi plus résistants que les deux espèces de départ à la Rouille couronnée (*Puccinia coronata* f. sp. *lolii* et *festucae*).

L'instabilité cytologique réduit la fertilité et la production de semences. Par sélection, on a obtenu des familles plus fertiles et peut-être partiellement plus stables.

Des hybrides fertiles ($2n = 42$) ont aussi été obtenus après rétrocroisement des amphidiploïdes avec la Fétuque élevée. Ils sont utilisés pour apporter à la Fétuque élevée, par introgression, certains caractères de qualité du Ray-grass.

On a également trouvé, dans la descendance de certains hybrides, des plantes fertiles avec 28 chromosomes présentant des caractères très semblables à ceux d'une Fétuque des prés tétraploïde.

Intérêt de l'hybridation Triticale $6x$ × Seigle pour la diversification génétique du Triticale

M. BERNARD et B. SAIGNE

Station d'Amélioration des Plantes, Domaine de Crouelle, I.N.R.A.,
63100 Clermont-Ferrand

L'hybridation Triticale $6x$ × Seigle est une des voies possibles d'introgression de caractères du Seigle dans le Triticale : « rusticité », type de développement, résistance au froid. L'étude de tels hybrides et de leur descendance a permis de mettre en évidence deux particularités intéressantes :

— au niveau des F_1 obtenues (formule génomique ABRR), nous avons généralement noté un appariement chromosomique plus important que celui attendu : il y a donc appariement entre chromosomes homéologues (appartenant vraisemblablement aux génomes A et B), ce qui traduit une inhibition de l'effet du gène

« *ph* » (chromosome 5B) qui interdit normalement ce type d'appariement. Une hypothèse est que les génotypes de Seigle utilisés apportent, au niveau des gènes contrôlant les appariements, des allèles de type « inducteurs » — et inhibiteurs du « *ph* ». Une étude est actuellement en cours pour élucider le déterminisme de cette inhibition;

— au niveau des descendance de ces F_1 , nous avons pu isoler des types stables à 28 chromosomes, qui correspondent à une « nouvelle espèce » (Triticale $4x$: (A/B) (A/B) (RR). Il est intéressant de noter que ce type de plante n'a pu être obtenu par croisements entre Seigles et espèces $2x$ de *Triticum*.

Nous avons tenté d'une part d'utiliser ce matériel $4x$ comme « espèce pont », d'autre part d'élucider la structure génomique de ce matériel. Pour cela, nous avons réalisé des croisements :

— avec des espèces $2x$: *Triticum monococcum*, *Aegilops speltoides* (pas d'hybrides obtenus), *Secale cereale* (nombreux hybrides). Dans ce dernier cas, les descendance ont ségrégué en des formes possédant de 14 à 42 chromosomes; ces plantes $6x$ posséderaient en fait 3 génomes de Seigle (A/B) (ABRRR);

— avec des espèces $4x$: *Triticum turgidum* (pas d'hybrides obtenus), *Secale cereale* $4x$ (obtention de F_1 par culture d'embryons). Ce type de croisement permettrait de s'orienter vers une structure $4x$, intermédiaire entre le Seigle $4x$ et le Blé dur, ayant conservé des caractères de rusticité et présentant un type de grain original;

— avec des espèces $6x$: Triticale $6x$ et *Triticum aestivum*, dans le but d'améliorer la vigueur et la fertilité du matériel $4x$, et d'introduire des gènes du Seigle dans le Blé tendre;

— avec une espèce $8x$: Triticale octoploïde, dans le but d'obtenir de nouvelles formes de Triticale $6x$ enrichies en chromosomes provenant du génome D (ou avec le génome D entier). Dans la mesure où il s'agit d'un génome important dans la détermination de certaines propriétés du grain, on peut penser que les types de Triticale obtenus auront un type de grain différent de celui des Triticales actuels.

Le matériel exploitable à partir de l'hybridation *Triticale* $6x$ $\times$ *Seigle* présente donc un intérêt pratique dans la mesure où de nombreuses possibilités d'introgression et même de création de nouvelles structures génomiques sont ouvertes, et un intérêt théorique dans la mesure où l'on dispose de modèle expérimentaux pour la création d'espèces et d'élaboration de génomes dans un complexe polyploïde.

L'hybridation *Vitis* $\times$ *Muscadinia* comme méthode d'introgression de caractères de résistance chez la Vigne cultivée et les problèmes cytogénétiques et taxonomiques qu'elle pose

A. BOUQUET

Station de Recherches de Viticulture de Bordeaux, I.N.R.A.,
Pont-de-la-Maye 33140 Villenave d'Ornon (France)

Le programme d'hybridation entre *Vitis vinifera* L. et *Vitis rotundifolia* Michx., initié en 1974, devrait permettre de compléter nos connaissances sur la cytogénétique de la Vigne et de préciser, par la méthode d'analyse génomique,

la parenté existant entre ces deux espèces. *V. vinifera* ($2n = 38$) et *V. rotundifolia* ($2n = 40$) appartiennent en effet à deux sections, *Eu vitis* et *Muscadinia*, dont la séparation remonte probablement à l'ère tertiaire et s'est accompagnée d'une différenciation génétique et chromosomique très nette. D'autre part, morphologiquement et anatomiquement, *V. rotundifolia* fait la liaison entre le genre *Vitis* et d'autres genres de la famille des *Ampélidacées*, notamment *Ampelocissus* ($2n = 40$). Les espèces de la section *Muscadinia*, au demeurant fort peu nombreuses, peuvent rester rattachées au genre *Vitis*, ou être considérées comme appartenant à un genre différent, en l'occurrence le genre *Muscadinia*.

L'objectif principal du programme est l'utilisation en sélection des nombreux caractères de résistance aux parasites existant chez *V. rotundifolia*, espèce sauvage dont certaines formes sont cultivées pour leurs fruits dans le Sud-Est des États-Unis, sous le nom de Muscadine. L'inventaire complet de ses aptitudes est en cours et l'on sait déjà que cette espèce est dotée d'une résistance très élevée vis-à-vis des parasites cryptogamiques (Mildiou, Anthracnose, Oïdium, Black-rot, etc), des insectes (Phylloxéra, Acariens) et des nématodes (*Meloidogyne*, *Xiphinema*). La réalisation d'un tel objectif se heurte à un certain nombre de difficultés inhérentes à tout travail d'hybridation entre espèces génétiquement éloignées : faible rendement du croisement aggravé par une incompatibilité unilatérale particulièrement marquée, et stérilité des hybrides F_1 . Ce type de difficultés n'a jusqu'ici jamais été rencontré dans les programmes classiques d'hybridation interspécifique chez la Vigne. Le premier obstacle peut être considéré comme surmonté grâce à la découverte de génotypes femelles de *V. vinifera* dotés d'une bonne nouaison en présence de pollen de *V. rotundifolia*. Par contre, les croisements inverses restent pratiquement impossibles.

L'analyse méiotique des hybrides F_1 obtenus sur cytoplasme de *V. vinifera* fait apparaître une homologie chromosomique incomplète entre les génomes *Vitis* et *Muscadinia*, avec des différences importantes dans les taux d'univalents observés en métaphase I chez 6 hybrides : 2,1 à 9,4 en moyenne par cellule. Ces variations pourraient être contrôlées par des facteurs génétiques, et non pas dues à des différences structurales dans les génomes des variétés utilisées en croisement (variétés de *V. vinifera* ou variétés de *V. rotundifolia*) puisque on les observe également entre plantes issues du même croisement. De plus, l'absence de corrélation entre les taux d'appariement chromosomique et les taux de fertilité ovulaire chez les 6 hybrides F_1 étudiés semble indiquer que d'autres facteurs ont une influence directe sur la stérilité des hybrides.

La variabilité observée dans les comportements méiotiques comme dans le niveau de fertilité des hybrides F_1 *Vitis* $\times$ *Muscadinia* laisse une prise considérable à la sélection, et nous avons obtenu un certain nombre d'hybrides ayant une fertilité femelle acceptable.

Les recroisements par *V. vinifera* peuvent ainsi se poursuivre au niveau diploïde sans nécessiter un doublement artificiel du stock chromosomique. On évite l'inconvénient des appariements préférentiels entre chromosomes *Vitis* d'une part et chromosomes *Muscadinia* d'autre part, qui sont apparemment la règle chez les hybrides tétraploïdes et l'on peut donc espérer des recombinaisons génétiques pour les caractères de résistance soumis à la sélection.

Les observations réalisées sur les premières descendance de recroisement par *V. vinifera* (BC_1) confortent cet espoir, d'autant plus que la vigueur moyenne des descendance BC_1 semble en corrélation positive avec la fertilité des hybrides F_1 .

Culture *in vitro* de l'Orge (*Hordeum vulgare* L.) en vue de l'application à l'étude de la Rhynchosporiose

M. BRANCHARD

Université de Paris-Sud, Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Orsay (France)

La Rhynchosporiose de l'Orge, causée par le champignon imparfait, *Rhynchosporium secalis* (Oud.) Davis, se développe actuellement en France tant à cause de l'importance croissante prise par l'Orge d'hiver (1 400 000 ha en 1978 pour 2 700 000 ha d'Orge) que de la pratique de certaines méthodes culturales (peu ou pas de rotation des cultures, utilisation de moissonneuses-batteuses, semis précoces...) et de la répétition de conditions climatiques particulières (automne pluvieux et hivers doux). L'incidence de la maladie sur le rendement a été peu étudiée; les quelques données connues sont issues de travaux américains et font état d'une perte moyenne qui serait de l'ordre de 10 p. 100, mais pourrait atteindre 40 p. 100. Des métabolites toxiques produits par le champignon ont été mis en évidence par AYESU-OFFEI et CLARE (*Aust. J. Biol. Sci.*, **24**, 169-174, 1971); les travaux plus récents d'AURIOL *et al.* (*Proc. Nat. Acad. Sci.* **9**, 4339-4343, 1978) aboutirent à la purification puis à la détermination de la formule d'une molécule toxique de faible poids, reproduisant l'essentiel des symptômes provoqués par le pathogène : le 1,2-propanediol — 2-0- α -cellobioside. A partir de cette molécule purifiée, l'interaction protoplaste-toxine doit être clairement précisée, l'utilisation d'une population de protoplastes permettant une étude quantitative du phénomène. Une comparaison avec les résultats obtenus au niveau cal est également envisagée.

Nous avons donc tenté d'obtenir des cals à partir de variétés d'Orge de printemps (« Bérénice », « Atlas 46 », « Pirolina ») et d'hiver (« Barberousse », « Igrî », « Kathy », « Monarque », « Sympa » et deux lignées I.N.R.A.). Les différents organes de la plante (feuille, nœud, entre-nœud, fragment d'épi, racine) ont été mis en culture ainsi que l'ensemble scutellum-embryon tronqué. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le milieu mis au point par CHENG et SMITH (*Planta* **123**, 307-310, 1975) : les cals apparaissent à partir des fragments de racine mais surtout à partir des ensembles scutellum-embryon tronqué. Ces cals peuvent se classer schématiquement en deux catégories qui se différencient essentiellement par les critères suivants : fréquence de repiquage, structure et pigmentation, potentialités de régénération sur les milieux utilisés, nombre chromosomique et manifestation du phénomène d'anergie.

Les essais d'obtention de protoplastes à partir de diverses parties de la plante aboutissent à des résultats hétérogènes. La technique retenue utilise le méso-phylle de jeunes plantes cultivées stérilement : actuellement, 1,5 à 2.10⁶ protoplastes vivants sont régulièrement obtenus par gramme de matière fraîche avec maximum de l'ordre de 5.10⁶. Sauf exception, ces protoplastes ne se divisent pas. Leur durée de survie varie de 1 à 6 semaines selon les conditions de culture.

Création et étude d'hybrides entre l'Orge cultivée (*Hordeum vulgare* L.) et le Blé (*Triticum* sp.)

Y. CAUDERON, J. TEMPE et G. GAY

*Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.,
78000 Versailles (France)*

A la suite des travaux de KRUSE (1973), nous avons entrepris, en 1976, de préciser les possibilités de création et d'utilisation d'hybrides entre *Hordeum* et *Triticum*. Un tel matériel pourrait servir à l'amélioration de chacun des deux genres, par introgression portant sur un petit nombre de chromosomes ou de fragments de chromosomes; par ailleurs, il pourrait déboucher sur de nouvelles « espèces » réunissant tout ou partie des génomes présents chez les parents. Enfin, des effets d'origine cytoplasmique pourraient être mis en évidence.

Tous les croisements ont été réalisés en serre pendant la période hivernale, sur des épis laissés sur pied, et à partir de fleurs castrées et pollinisées manuellement. La culture *in vitro* d'embryons immatures prélevés environ dix jours après la pollinisation s'est avérée nécessaire.

Pour le moment, seuls ont réussi des croisements effectués en prenant comme mère des Orges cultivées de type printemps à deux rangs : les variétés « Ketch », « Betzes » et « Clipper » (déjà utilisées avec succès par d'autres équipes) et la variété hollandaise « Aramir ». Cinq plantes F_1 ont été obtenues, dont le père est soit *T. timopheevi*, dont l'hybridation avec l'Orge cultivée n'avait jamais été signalée, soit *T. aestivum* (combinaison déjà obtenue par d'autres équipes).

Ces F_1 sont les suivantes :

- « Aramir » $\times$ *Triticum timopheevi*, $n + n' = 21$;
 - « Ketch » $\times$ *Triticum timopheevi*, $n + n' = 21$ (cf. *C.R. Acad. Sci.*, **286**, 1979 p. 1687);
 - « Ketch » $\times$ *T. aestivum* ssp. *vulgare* cv « Chinese Spring »
 - « Clipper » $\times$ *T. aestivum* ssp. *vulgare* cv « Chinese Spring »
 - « Betzes » $\times$ *T. aestivum* ssp. *vulgare* cv « Chinese Spring »
- $$\left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} n + n' = 28$$

Toutes les plantes F_1 sont très vigoureuses, et morphologiquement très proches du parent Blé. Leur méiose est irrégulière et se rapproche de celle d'un haploïde avec un fort taux d'asyndèse; elles sont très peu fertiles.

Nous avons réalisé des traitements à la colchicine, qui n'ont permis d'obtenir aucun amphiploïde. Cependant, la plupart des plantes ont pu être maintenues par voie végétative pendant au moins deux années. Toutes ont donné une descendance par recroisement avec *T. timopheevi* et surtout avec *T. aestivum* (variétés « Chinese Spring », « Maris Hobbit », « Vilmorin 27 », « Rf (Z), RS/ND 481 », « Yecora 70 »).

Les F_1 (Orge $\times$ *T. timopheevi*) sont très peu fertiles. Les graines issues de leur recroisement avec le Blé n'ont produit que 3 plantes F_1 de R_1 viables ($2n = 21$, 34 et 37).

Le second type de F_1 (Orge $\times$ *T. aestivum*) est nettement plus fertile. Les grains issus de leur recroisement avec *T. aestivum* ont permis d'obtenir 46 plantes

viables et morphologiquement très diverses mais restant proches du Blé. Mise à part une plante haploïde, à cette génération, les nombres $2n$ s'échelonnent de 38 à 60, avec une moyenne de $2n = 48$ et un mode à $2n = 49$. A la méiose, il se forme chez la plupart des individus environ 21 bivalents mais avec un nombre variable d'univalents. Par rapport à la génération précédente, la fertilité femelle est accrue, mais la fertilité mâle reste nulle.

L'étude de ce matériel est en cours.

Recherches ultrastructurales, cytochimiques et cytoenzymologiques sur les radicules d'*Allium cepa* en vie ralentie et en germination (*)

M. COLSON

Parmi les problèmes biologiques, ceux que pose la vie ralentie de la graine sont des plus actuels. Or, la structure cellulaire des embryons, dont les tissus sont caractérisés par un état déshydraté et une activité métabolique réduite, reste peu connue.

Des techniques cytologiques variées (double fixation, imprégnation métallique, tests cytochimiques, activités enzymatiques) ont permis de préciser les ultrastructures des embryons d'*Allium cepa*, ainsi que les transformations intervenant durant les premières heures de l'hydratation et de la germination (COLSON M., 1979 Thèse de Doctorat 3^e cycle, Paris).

Les cellules radiculaires des graines d'*Allium cepa*, en vie ralentie, possèdent un cytoplasme riche en inclusions de réserves, où existent des éléments de réticulum endoplasmique réduits, et des groupes de mitochondries globuleuses. Dans le noyau, la chromatine condensée en un réseau compact est séparée de l'enveloppe nucléaire. Différentes activités enzymatiques (phosphatasique et peroxydasique) ont été localisées.

Au cours des premières heures de l'hydratation germinative des graines d'*Allium cepa*, la pénétration de l'eau déclenche de multiples phénomènes. Les caractères des organites se modifient sensiblement. Le réticulum endoplasmique acquiert des propriétés réductrices révélées par l'imprégnation osmique. Des polysaccharides réactifs sont associés à la surface du plasmalemme. La chromatine se disperse et s'accrole à l'enveloppe nucléaire. Les réserves sont progressivement utilisées. Les changements ultrastructuraux reflètent des modifications dans le métabolisme. Les sites présentant une activité enzymatique se généralisent et se diversifient. Très précocement, au cours des premières heures de l'hydratation des graines, les tissus passent rapidement de l'état de vie ralentie à celui de vie active.

(*) Recherches réalisées au Laboratoire de Biologie végétale de l'Université Pierre et Marie Curie.

Influence de déficiences provoquées par irradiation sur l'augmentation de la recombinaison et de la non-disjonction chez *Petunia hybrida* Hort (*)

A. CORNU et D. MAIZONNIER

Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., BV 1540, 21034 Dijon Cedex (France)

Le marquage génétique a permis de mettre en évidence que les traitements mutagènes effectués sur le Pétunia produisent deux types de mutants :

- mutants digamétiques : un gamète porte l'allèle normal, l'autre l'allèle muté, tous deux sont viables;
- mutants monogamétiques : seul est fonctionnel le gamète normal; l'autre est rendu létal par la présence d'un chromosome déficient.

Des expériences préliminaires, portant sur le chromosome V, ont permis de constater que les descendances de mutants monogamétiques contiennent un nombre accru de plantes recombinantes et de plantes trisomiques V.

La mise en place de nouvelles expériences a confirmé les premières observations, à savoir :

- très faible augmentation de la recombinaison chez les mutants digamétiques;
- augmentation considérable de la recombinaison — allant de 2,5 à 42 fois suivant les régions chromosomiques considérées, — chez les mutants monogamétiques;
- apparition d'une forte proportion de trisomiques V, — jusqu'à dix fois la fréquence d'apparition spontanée, — dans trois descendances sur quatre de mutants monogamétiques.

On ignore encore si l'on doit attribuer ces observations à un « effet délétion » direct ou à la suppression d'un système génétique agissant sur la recombinaison et la non-disjonction.

(*) Ce travail a fait l'objet d'un article publié sous les références suivantes : A. CORNU and D. MAIZONNIER, 1979. Enhanced non-disjunction and recombination as consequences of γ -induced deficiencies in *Petunia hybrida*. *Mutat. Res.*, **61**, 57-63.

Technique de coloration ou de surcoloration des chromosomes par le « Giemsa R »

R. DUMAS DE VAULX

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères, I.N.R.A.,
Domaine Saint-Maurice, 84140 Montfavet, Avignon (France)*

La technique décrite ci-après donne de bons résultats pour la coloration des chromosomes de *Cucumis*, *Curcubita*, *Capsicum*, *Solanum*, *Lycopersicon*.

1. Prétraitement dans une solution aqueuse saturée d' α -monobromonaphtalène pendant 4-6 heures à $+ 4^{\circ}\text{C}$, puis fixation dans l'alcool acétique 3-1 ou dans

l'acide acétique à 90 p. 100 (une demi-heure) et stockage du matériel à 4 °C, dans l'éthanol à 70°.

2. Hydrolyse dans HCl N pendant 10 minutes et/ou traitement à la pectinase 1 p. 100, (temps variable selon le matériel).
3. Écrasement et étalement entre lame et lamelle finement albuminée (pour coller la préparation).
4. Décollement des lamelles dans l'éthanol à 40° puis déshydratation progressive par des passages de quelques minutes dans l'éthanol à 70, 95, absolu.
5. Séchage des lamelles à l'air (il est très important que tout l'alcool soit évaporé).
6. Coloration : trempage des lamelles séchées dans la solution de « Giemsa R » pendant 2 à 5 minutes selon les espèces et l'intensité de coloration désirée.
Les chromosomes sont colorés en violet foncé. (Préparation du colorant : mélanger 5 ml de la solution-mère de « Giemsa R » (RAL-KUHLMANN) dans 100 ml de tampon phosphate à pH 6,8-6,9.)
7. Rinçage des lamelles dans l'éthanol absolu. Si la coloration est trop foncée, on peut l'éclaircir par des passages rapides dans l'éthanol à 70, 95 et absolu.
8. Montage dans une goutte d'Euparal.

Cette technique permet aussi de surcolorer des préparations mal colorées par d'autres techniques : dans ce cas, partir du point 4 (décollement des lamelles). Dans la pratique, nous réalisons souvent cette double coloration quand la technique de « Feulgen » n'a pas ou a mal coloré les chromosomes, ou encore pour observer les mêmes chromosomes colorés de deux façons différentes.

Aspects géographiques de la polyploïdie et de la dysploïdie intraspecificues

C. FAVARGER

Université de Neuchâtel, Suisse

L'origine et l'histoire des sippes naturelles polyploïdes ou dysploïdes se confond avec ce que l'on nomme en géographie botanique l'origine des aires. On pense de plus en plus aujourd'hui qu'entre la microévolution et la mégaévolution, il n'y a qu'une différence de temps. C'est pourquoi la distribution comparée des races di- et polyploïdes ou dysploïdes revêt un grand intérêt. Dans la flore des Alpes, les races di- et polyploïdes d'une même espèce sont en général allopatriques, ce qui a permis de définir plusieurs types de pseudovicariances : alpino-planitiaire, australe-septentrionale, occidentale-orientale et centripète. Dans certains cas, les races sont partiellement sympatriques : cas du complexe *Senecio incanus-carniolicus*. Ce sympatrisme peut être primaire. Cela suppose que le polyploïde formé parmi les populations diploïdes des Dolomites p. ex. possédait un avantage sélectif qui lui aurait permis de conquérir lui seul les territoires libérés par les glaciers; ou bien il est secondaire, et le polyploïde formé lors de la migration du diploïde après le retrait des glaciers a envahi secondairement les stations où des populations diploïdes s'étaient maintenues (p. ex. les Dolomites). Les mêmes problèmes se posent « *mutatis*

mutandis » dans le cas d'espèces possédant des populations di- et polyploïdes dans la région méditerranéenne et polyploïdes en Europe centrale. La dysploïdie avec séparation géographique des races est moins fréquente; elle se présente dans le complexe de l'*Erysimum grandiflorum-sylvestre* où elle se complique de polyploïdie. Enfin ce phénomène se présente à l'état inchoatif dans le complexe du *Carduus defloratus* agg. où la séparation géographique des races est encore incomplète, du moins dans les Alpes et le domaine périalpin.

Sélection du Triticale en Suisse

A. FOSSATI

Station fédérale de Recherches agronomiques de Changins, CH-1260 Nyon (Suisse)

La production de céréales panifiables en Suisse a atteint un niveau suffisant pour les besoins du pays; par contre, nous importons 80 p. 100 des céréales fourragères. Le Triticale, en tant que céréale fourragère, s'insère donc dans le cadre de la planification agricole nationale; celle-ci prévoit de diminuer la production herbagère pour faire place à la culture des céréales fourragères.

Outre la recherche d'un haut rendement et d'une bonne qualité des protéines, les travaux sur le Triticale en Suisse doivent tendre à adapter cette plante aux conditions climatiques des zones marginales : résistance à la germination sur pied et à la verse dans les zones à fortes précipitations, adaptation à des régions froides et fortement enneigées. Le programme a commencé dans les années 50 par la création de Triticales octoploïdes. Malgré un long travail de sélection, il s'est avéré impossible d'améliorer le niveau de rendement de ce type de Triticale. Les 180 lignés octoploïdes de notre collection représentent une source intéressante de variabilité génétique pour le programme actuel d'amélioration du Triticale hexaploïde. La recherche de gènes d'adaptation a été le premier objectif du nouveau programme. Chez les Triticales hexaploïdes aussi bien que chez les octoploïdes, nous avons trouvé un bon nombre de lignées ayant un niveau de résistance au froid et à l'enneigement comparable à celui du seigle « Kustro ». De plus, nous avons retenu 4 lignées dont la résistance à la germination sur pied est moyenne à bonne. L'ensemble de ces lignées constitue un bon départ pour le programme d'hybridation.

Chromosomes et cytogénétique chez *Drosophila* I : Organisation génétique - Généralités

H. FREI

*Laboratoire de Génétique animale et végétale,
Université de Genève, Suisse*

Le genre *Drosophila* comprend plus de 1 200 espèces décrites qui se distinguent non seulement par la morphologie, les adaptations écologiques etc., mais encore par un éventail de différences à plusieurs niveaux de l'organisation génétique.

Parmi celles-ci, on peut citer les différences dans le contenu en ADN, la fréquence du crossing-over, le caryotype et l'ordre dans l'alignement des gènes sur les chromosomes. Outre les facilités d'élevage au laboratoire, les drosophiles présentent de nombreux avantages dans des domaines de recherche fondamentale des plus variés, d'une part grâce à nos connaissances relativement poussées de la génétique factorielle, d'autre part grâce à des différenciations chromosomiques spéciales, telles que les chromosomes polytènes dans les glandes salivaires des larves et les chromosomes Y plumeux qui se développent dans les spermatocytes de certaines espèces. Les aberrations chromosomiques (inversions, translocations), lorsqu'elles déterminent un phénotype mutant, permettent une localisation très précise du gène correspondant sur les chromosomes polytènes. Chez *D. melanogaster*, des recherches récentes ont montré qu'en principe il existe une relation 1:1 entre gènes et bandes transversales des chromosomes polytènes, bien que certaines exceptions à la règle soient connues. Pour d'autres espèces de *Drosophila* et d'autres diptères encore, la validité de la règle 1 gène = 1 bande semble pourtant incertaine. Avec raison, on peut admettre que le nombre de gènes présents dans le génome n'est pas sensiblement différent de celui de *D. melanogaster*. Cependant, chez *D. hydei* et chez *Chironomus tentans*, les bandes dans le caryotype polytène sont de 50 p. 100 moins nombreuses.

Chromosomes et cytogénétique chez *Drosophila* II : Culture d'un tissu et induction d'aberrations caryotypiques

H. FREI

Laboratoire de Génétique animale et végétale,
Université de Genève (Suisse)

La mutation « *lethal-giant-larvae* » de *D. hydei* inhibe la métamorphose. Le développement du mutant s'arrête au dernier stade larvaire. Parmi d'autres anomalies de l'anatomie interne, la larve létale montre un cerveau hypertrophié dans lequel les mitoses sont particulièrement fréquentes. Cultivé *in vivo*, dans l'abdomen de mouches adultes normales, ce tissu de cerveau prolifère de façon extraordinaire et en tant que tumeur maligne il tue l'hôte après une période de culture prolongée. Cultivé *in vitro*, dans un milieu qui permet par exemple la culture de cellules embryonnaires, le tissu ne prolifère plus. Par contre, on observe que le traitement induit de nombreuses anomalies chromosomiques et caryotypiques : polyploïdies, polysomies, délétions, ou apparition micro-chromosomes multiples. Lorsque le tissu est injecté dans des larves normales, il passe la métamorphose avec l'hôte, sans se différencier pourtant. Pendant la métamorphose, les cellules de cerveau injectées ne perdent apparemment pas la capacité de se diviser. L'analyse cytologique montre cependant qu'elles acquièrent fréquemment des anomalies chromosomiques et caryotypiques du même type que celles qui sont induites par la culture *in vitro*. Le cerveau natif, pris dans les larves létales, ne montre d'ailleurs que des mitoses parfaitement normales et la culture *in vivo* ne provoque que relativement peu d'anomalies. Les résultats suggèrent que les changements observés dans le milieu ambiant des cellules (culture *in vitro*) ou dans les conditions physiologiques (métamorphose) peuvent interférer avec la régulation du cycle mitotique des cellules du cerveau tumoral du mutant « *lethal-giant-larvae* ».

Chromosomes et cytogénétique chez *Drosophila* III : Un chromosome X à transmission instable

H. FREI

Laboratoire de Génétique animale et végétale,
Université de Genève, Suisse

Un chromosome X de *D. hydei*, de nature quelque peu spéciale, se comporte de façon instable aussi bien à la méiose mâle qu'à la première division mitotique du zygote. De toute apparence, il est souvent perdu pendant la spermatogenèse, ce qui explique le fait qu'on trouve régulièrement trop peu de femelles (XX) dans la progéniture de mâles qui possèdent ce chromosome X. En revanche, outre les 50 p. 100 de mâles XY normalement présents, il apparaît des mâles de type XO. La perte mitotique se manifeste par la production de descendants qui représentent des mosaïques, composées moitié-moitié d'une zone femelle (XX) et d'une zone mâle (XO le plus souvent). L'étude cytologique du chromosome a montré qu'il s'agissait d'un chromosome X pratiquement dépourvu d'hétérochromatine. La seule composante hétérochromatique présente tire son origine d'un chromosome Y. Nous avons donc affaire à une translocation, ou plus précisément à une demi-translocation parce que la partie réciproque de celle-ci n'a pas été retenue. Le site de réunion dans le chromosome instable se trouve à proximité du centromère, voire dans la constriction primaire elle-même. Plusieurs indications laissent à penser que la perte (zygotique ou prézygotique) du chromosome est due à des conditions méiotiques anormales (corrélation avec la non-disjonction des chromosomes sexuels, perte plus fréquente lorsque le chromosome Y présente une déficience au niveau des organisateurs nucléolaires, perte plus fréquente lorsque les parents mâles sont âgés). Afin d'arriver à une meilleure connaissance des mécanismes qui dirigent l'appariement des chromosomes et la ségrégation dans la méiose achiasmatique chez le mâle, nous avons entrepris une étude cytologique et génétique de celle-ci par comparaison d'individus porteurs de chromosomes normaux et d'individus présentant des aberrations chromosomiques favorables à de telles analyses. Les études sont en cours.

Cytogénétique des hybrides *Lolium multiflorum* × *Festuca arundinacea*

G. KLEIJER

Station fédérale de Recherches agronomiques de Changins,
CH-1260 Nyon (Suisse)

Le grand intérêt pratique de ce croisement est la combinaison des caractères favorables des deux espèces : la bonne installation, le rendement en première année et la qualité fourragère du Ray-grass d'Italie avec la persistance, la résistance au froid et à la sécheresse ainsi que l'étalement de la précocité de la Fétuque élevée.

La réussite du croisement est aisée si le Ray-grass est pris comme mère. Le croisement réciproque ne donne que très peu de résultats. Le but des croisements

effectués à Changins est de voir si le génotype de la Fétuque élevée influence l'appariement des chromosomes à la méiose de l'amphiploïde. Pour cette raison, la variété suisse de Ray-grass « Lior » ($2n = 14$) a été croisée avec différentes fétuques élevées ($2n = 42$). Les hybrides F_1 (28 chromosomes) sont complètement mâle-stériles bien qu'ils montrent un taux d'appariement très élevé à la méiose. La plupart des chromosomes forment des bivalents, jusqu'à 14 par cellule. Cette formation élevée de bivalents indique que les 7 chromosomes du Ray-grass peuvent s'apparier avec des chromosomes de la Fétuque élevée et que les 14 autres de la Fétuque élevée peuvent s'apparier entre eux. On constate assez peu de différences d'appariement entre les différentes combinaisons, excepté pour l'une d'entre elles où l'on trouve davantage d'univalents et moins de multivalents.

Le doublement du nombre de chromosomes par traitement à la colchicine rétablit partiellement la fertilité. A la méiose des amphiploïdes, on trouve une fréquence élevée de bivalents, mais également un nombre considérable d'un-et multivalents. Il y a peu de différences entre les combinaisons. Bien que différents génotypes de Fétuque élevée aient été utilisés au départ, aucun des amphiploïdes n'a une méiose particulièrement stable. Cette instabilité, qui entraîne une forte proportion d'aneuploïdes dans les descendance, ne semble pas influencée par la température : les méioses des plantes cultivées à différentes températures montrent toutes à peu près la même irrégularité.

Karyologie des *Xenopus*

H. R. KOBEL

*Laboratoire de Génétique animale et végétale,
Université de Genève (Suisse)*

Les *Xenopus*, appartenant à la famille *Pipidae* (Batraciens anoures), ont une répartition exclusivement africaines; ils sont aquatiques. On connaît actuellement 12 espèces : 1 espèce à $2n = 20$ chromosomes et 3,6 pg ADN (erythrocytes), 7 à 36 et 6,4-8,5 pg, 3 à 72 et 12,7 pg, 1 à 108 et 16,3 pg; donc des rapports de ploïdie de 2:4:8:12. Le karyotype des espèces à 20 et 36 chromosomes est composé de paires de chromosomes, chez les autres de quadruples, ou de sextuples; la méiose ne montre que des bivalents chez toutes les espèces. Malgré cette évidente polyploïdie, toutes ces espèces sont fonctionnellement quasidiploïdes : il n'y a qu'une paire de chromosomes organisateurs nucléolaires, ainsi qu'une seule paire de gènes d'histocompatibilité majeure, l'espèce avec le plus grand contenu d'ADN faisant exception en ce qui concerne ce gène; de même pour les albumines, dont les espèces à 20 et 36 chromosomes en possèdent une, mais les espèces à 72 et 108 chromosomes, 2, resp. 3 types. Le développement parthénogénétique des œufs (par gynogénèse expérimentale) n'aboutissant qu'à des embryons léthaux indique également un état de diploïdie fonctionnelle. Chez l'espèce à 108 chromosomes seulement, il y a exceptionnellement des survivants « hémiploïdes ».

L'évolution par polyploïdisation est vraisemblablement causée par hybridation interspécifique comme le suggèrent les conditions de fertilité des hybrides expérimentaux : les femelles hybrides produisent fréquemment deux types de gamètes, des œufs aneuploïdes issus d'oocytes diploïdes et des œufs diploïdes issus d'oocytes tétraploïdes, qui sont le résultat d'endoreduplications spontanées

dans la lignée germinale. Les chromosomes endoredupliqués forment des bivalents et les divisions méiotiques attribuent donc deux garnitures complètes de chromosomes aux œufs, qui sont ainsi diploïdes. Chez les oocytes hybrides diploïdes par contre, la méiose se fait par univalents, ce qui donne des œufs aneuploïdes et léthaux. Quoique encore non observé chez les mâles hybrides artificiels, il semble probable que le même mécanisme de polyploïdisation puisse également avoir lieu dans la lignée germinale mâle. La création d'une population allotétraploïde serait ainsi possible déjà en 3 générations.

Les complexes polyploïdes naturels, origine et évolution

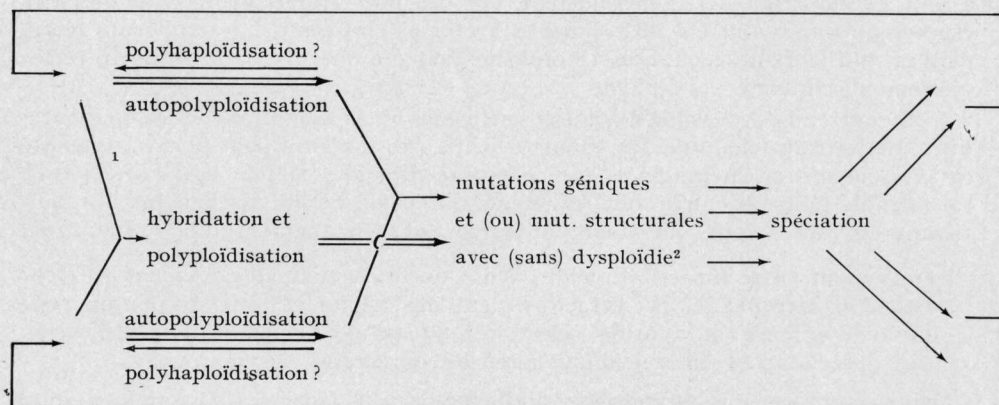
Ph. KUPFER

Institut de Botanique de l'Université de Nauchâtel (Suisse)

Si les cytologistes s'accordent pour reconnaître dans la polyploïdie l'un des processus majeurs de la différenciation du caryotype, ils sont beaucoup plus partagés lorsqu'il s'agit d'apprécier ses causes, et partant son origine, et ses conséquences. L'hybridation, en stimulant le taux d'aberrations structurales et de mutations géniques, engendre une certaine instabilité cytologique. Il en résulte des irrégularités méiotiques d'où une dégradation progressive de la fertilité et une production accrue de gamètes non réduits. Le caryotype diploïde, altéré, se trouvera en quelque sorte rééquilibré par la polyploïdisation. Les endomitoses spontanées, observées soit dans des ovules très jeunes, soit dans des méristèmes racinaires, ne paraissent pas, sauf exceptions, provoquer la polyploïdie. Dans la majorité des complexes polyploïdes étudiés en Europe austro-occidentale, la spéciation a précédé la polyploïdisation. De plus, par sa morphologie et (ou) son écologie, le polyploïde est souvent beaucoup plus proche de l'une des races diploïdes que de toutes les autres. L'hypothèse d'une allopolyploïdie génique dans ces groupes paraît des plus probables. Dans le cas des Renoncules à fleurs blanches (sect. *Ranuncella* (Spach) Freyn.), la polyploïdie dresse une barrière d'isolement génétique absolue, non seulement entre races chromosomiques d'une même espèce, mais aussi entre races d'espèces différentes. En interrompant l'introgression interspécifique, la polyploïdie paraît favoriser la spéciation divergente. En revanche, dans d'autres groupes, la polyploïdie permet l'hybridation là où elle est impossible au niveau diploïde. La polyploïdie est fréquemment liée à l'apomixie. Ainsi, chez de nombreux *Festuca*, *Poa*, *Potentilla*, *Ranunculus*, la relation « diploïde sexué — polyploïde apomictique » est vérifiée. La polyploïdie a un double effet tampon : 1° (effet négatif) au niveau de l'expression phénotypique des mutations géniques en raison de l'hérédité tétrasomique, 2° (effet positif) au niveau génotypique, les remaniements structuraux seront mieux tolérés qu'au degré diploïde en raison de la redondance de l'information génétique. La polyhaploïdisation ou dépolyploïdisation n'a pas joué un rôle notable dans la micro-évolution des espèces collectives d'Europe, sauf peut-être chez *Ranunculus ficaria* (races 2x, 3x, 4x largement sympatriques, diploïdes erratiques et sporadiques). Lorsqu'elle est démontrée (chez les autopolyploïdes stricts), elle a tendance à freiner l'évolution divergente des deux races chromosomiques en permettant une introgression réciproque. La dépolyploïdisation est très aléatoire chez les allopolyploïdes, où

son importance serait pourtant beaucoup plus grande. En créant de nouveaux diploïdes, elle réactiverait la spéciation.

Dans les complexes polyploïdes naturels, le cycle suivant est assez largement réalisé (en tout ou partie).



1. Suivant les groupes, l'hybridation a précédé (cas le plus fréquent) ou suivi la polyploïdisation.
2. Dysploïdie le plus souvent descendante.

Croisements entre espèces diploïdes des Glaïeuls originaires du Cap et cultivars tétraploïdes (*)

Ch. POISSON

*Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A.,
86600 Lusignan (France)*

Les cultivars tétraploïdes des Glaïeuls ($2n = 4x = 60$) ont tendance à tubériser en jours courts et ne fleurissent que difficilement en hiver sous nos latitudes. Toute une série d'espèces diploïdes originaires du Cap tubérise en été mais fleurit en automne, en hiver ou au début du printemps. Les triploïdes résultant de croisement entre certaines de ces espèces diploïdes et les cultivars tétraploïdes fleurissent en hiver mais, sous la latitude de Fréjus, leur grossissement de plein air présente des difficultés : ils sont en effet sensibles aux virus de la Mosaïque du Tabac et du Haricot et la durée de leur période de grossissement au printemps est trop restreinte. Le rétrocroisement des hybrides F_1 par leurs parents tétraploïdes ou diploïdes permet de rétablir la fertilité dans une mesure telle qu'il devient possible d'envisager un programme de sélection dans les descendance. Les descendants du triploïde croisé par les cultivars tétraploïdes ont des nombres chromosomiques compris entre $3x$ et $5x$ mais ils ne fleurissent que difficilement en

(*) Recherches réalisées à la Station d'Amélioration des plantes florales de Fréjus.

hiver. Les descendants du triploïde croisé par les espèces diploïdes ont des nombres chromosomiques compris entre $3x$ et $4x$. Certains des tétraploïdes ainsi obtenus sont parfaitement fertiles. Physiologiquement, ces plantes sont très proches des triploïdes (floraison hivernale, sensibilité à l'accroissement de la température conduisant à la tubérisation); phénotypiquement elles ressemblent également à leur parent triploïdes, généralement, ont des plus grands fleurons. Différentes espèces du Cap ayant été introduites à Fréjus et croisées par les cultivars tétraploïdes, plusieurs descendances tétraploïdes ont été obtenues à la suite du rétrocroisement triploïde $\times$ diploïde.

En outre, il est possible de croiser entre elles les espèces diploïdes et d'en obtenir, dans certains cas, une descendance fertile : ce matériel peut alors être utilisé en croisements au même titre qu'une espèce diploïde. Si une seule voie paraît raisonnable pour obtenir le but recherché, obtention de populations fertiles fleurissant en hiver, deux voies sont ouvertes pour en augmenter la variabilité :

- croisement entre espèces diploïdes, suivi du croisement des descendances par cultivars tétraploïdes et rétrocroisement des triploïdes obtenus par un type diploïde parental ou hybride; sélection des tétraploïdes fertiles puis utilisation des descendances en vue d'améliorer les caractères agronomiques;
- croisement de plusieurs espèces diploïdes par des cultivars tétraploïdes, suivi du rétrocroisement des triploïdes par les diploïdes correspondants; sélection des tétraploïdes fertiles puis croisement entre eux des tétraploïdes de diverses origines.

Croisements interspécifiques dans le genre *Brassica* en vue d'obtenir une stérilité-mâle cytoplasmique chez le Colza

P. ROUSSELLE (*), I. BARTKOWIAK-BRODA (**) et F. DOSBA (*)

Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., 35650 Le Rheu (France) ()*

La stérilité-mâle cytoplasmique du Radis (OGURA, 1968, *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univer.* **6** (2), 39-78) a été transférée chez le Chou (BANNEROT, BOULIARD, CAUDERON et TEMPÉ, 1974 *Proc. EUCARPIA Meeting Cruciferal-Vegetable Crop Sect.*, 52-54). Un croisement naturel avec le Colza a permis d'obtenir des plantes mâle-stériles à partir de ce matériel.

Nous avons entrepris de transférer ce cytoplasme chez 140 lignées de Colza : toutes les plantes obtenues en F_1 , BC_1 et BC_2 présentent une déficience chlorophyllienne. Cette dernière varie en fonction du milieu et s'exprime plus nettement à basse température. La totalité du matériel observé est entièrement mâle-stérile : nous n'avons observé aucune F_1 restaurée.

Une étude de la morphologie florale a mis en évidence une atrophie presque complète du système reproducteur mâle, les pièces florales femelles restant normales. L'étude histologique a permis de préciser que les anthères des fleurs mâle-stériles présentaient des tissus de soutien réduits; dans les régions occupées nor-

(**) Adresse actuelle : Plant Breeding and Acclimatization Institute, Poznan (Pologne).

malement par le pollen et les cellules du tapis, un ensemble indifférencié (ou dédifférencié) est visible. Une analyse du comportement méiotique mâle révèle l'existence d'associations chromosomiques complexes (multivalents) dont l'origine reste à préciser.

La recherche de gènes de restauration dans l'espèce Colza n'a pas encore abouti. Un croisement entre une lignée de Colza mâle-stérile et un *Raphano-brassica* a produit plusieurs plantes non-déficientes en chlorophylle et présentant une bonne fertilité. L'étude des descendance est en cours.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque *mémoire*, on indiquera : — le *titre courant* pour les hauts de pages devra être fourni en 40 signes au maximum; — le *titre du mémoire*; il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — le *nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — le *nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; — le *nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les *mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion et conclusion*; f) *titre et résumé* en anglais ou destinés à être traduits en anglais comportant une analyse *complète* de l'article; g) *remerciements* pour les collaborateurs, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques*.

Les *travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les *mémoires* rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un *résumé français très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les *références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les *articles* : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivis (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées); le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.*; le volume; la première et la dernière page de l'article.

Pour les *ouvrages* : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les *tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part*. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les *graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit à l'état définitif soit à l'état de projets, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : soit × 0,5, soit × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. RIVES, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris, France. On demande trois exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction à M^{me} MANDON, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, C.N.R.A., 78000 Versailles.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS 1980	France Prix T.T.C.	Étranger Prix Net	LE NUMÉRO	
			France Prix T.T.C.	Étranger Prix Net
ANNALES AGRONOMIQUES, 4 n°s par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 n°s par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 n°s par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 n°s par an	275 F	303 F	84 F	84 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 4 n°s par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 n°s par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 n°s par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 n°s par an ...	275 F	303 F	84 F	84 F
APIDOLOGIE	100 F	175 F	30 F	50 F
		(sauf RFA)		(sauf RFA)
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIO- PHYSIQUE, 6 n°s par an (*)				
ANNALES DE ZOOLOGIE, ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 n°s par an				

* Les annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique deviennent : « Reproduction, Nutrition, Développement »

** Les annales de Zoologie, Écologie animale cessent avec le n° 4, volume 11, 1979.

Les articles publiés dans cette série paraîtront désormais dans les *Ecologia Applicata* de la revue : *Acta Oecologica*.
Pour ces 2 revues, s'adresser à : C.D.R. Gauthier-Villars. B.P. 119, 93104 MONTREUIL CEDEX. Tél. (1) 374-12-45.

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Tarif 1980

Utilisation pour les ruminants des pâturages d'altitude et parcours méditerranéens. X ^e Journées du Grenier de Theix. 576 p., 1979.	110,00 F
La Forêt et la Ville. Essai sur la forêt dans l'environnement urbain et industriel. 252 p., 1979.	50,00 F
Alimentation des ruminants. Principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux et valeur nutritive des aliments. 600 p., 1978.	140,00 F
Introduction à la statistique en biologie par S. C. Pearce, traduction de J. P. Doazan. 260 p., 1978.	25,00 F
L'I.N.R.A., l'eau et la production agricole. 270 p., 1978.	50,00 F
Génétique et Amélioration de la Vigne. Symposium international sur l'amélioration de la vigne. Bordeaux, 14-18 juin 1977. 472 p., 1978.	230,00 F
Pays, Paysans, Paysages dans les Vosges du Sud, par le Groupe de Recherches I.N.R.A.-E.N.S.S.A.A. 192 p., 1978.	55,00 F
Flore illustrée des Phanérogames de Guadeloupe et de la Martinique, par J. Fournet. 1652 p., 1978.	300,00 F
Les Rongeurs de France, faunistique et biologie, par H. Le Louarn et M. C. Saint-Girons. 164 p., 1977.	80,00 F
La Vache laitière. IX ^e Journées du Grenier de Theix. 342 p., 1977.	60,00
Amélioration génétique des animaux de ferme. Application aux bovins (sous la direction de B. Vissac). 160 p., 1977.	35,00 F
Carte pédologique de la France à 1/1 000 000 par J. Dupuis.	96,00 F
Cartes pédologiques de France à 1/100 000. (Vichy, Perpignan, Angoulême, Brives, Dijon, Toulon, Moulins, Condom, Tonnerre, Privas, St-Dié, Lesparre). chacune	96,00 F
Le Pois. Étude génétique des caractères, classification, caractéristiques variétales portant sur les variétés inscrites au catalogue officiel français, par R. Cousin. 111 p. et 40 fiches, 1974.	168,50 F
Les arbres et arbrisseaux acclimatés en région méditerranéenne française. Catalogue commenté par P. Augé, P. Allemand, R. Hames. 144 p., 1973.	63,50 F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.

Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I.N.R.A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U.N.E.S.C.O.

Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.

TABLE DES MATIÈRES

A. J. ANTCLIFF. — Inheritance of sex in <i>Vitis</i> (Le contrôle génétique du sexe dans le genre <i>Vitis</i>)	113
H. THIELLEMENT. — Cytoplasmic male-sterility in <i>Vicia faba</i> L. V. — Intermediate phenotypes (La stérilité mâle cytoplasmique chez <i>Vicia faba</i> L. V. — Phénotypes intermédiaires)	123
G. BRANLARD, M. ROUSSET. — Les caractéristiques électrophorétiques des gliadines et la valeur en panification du Blé tendre	133
A. SEGALA, Martine SEGALA, G. PIQUEMAL. — Recherches en vue d'améliorer le degré d'autogamie des cultivars de Tournesol (<i>Helianthus annuus</i> L.). I. — L'autogamie et l'autocompatibilité pollinique	151
A. SEGALA, Martine SEGALA, G. PIQUEMAL. — Recherches en vue d'améliorer le degré d'autogamie des cultivars de Tournesol (<i>Helianthus annuus</i> L.). II. — Étude de quelques caractères facilitant l'accès du pollen aux papilles du stigmate	161
G. PIQUEMAL, J. C. MOURET. — Contribution à l'amélioration génétique de la fructification du Tournesol (<i>Helianthus annuus</i> L.). Variation du taux de fructification des fleurs selon leur emplacement et leur orientation	175
M. RENARD, Françoise DOSBA. — Étude de l'haploïdie chez le Colza (<i>Brassica napus</i> L.) var. <i>oleifera</i> METZGER	191
Réunion du Groupe de Travail « Cytologie et Cytogénétique » I.N.R.A.	211

CONTENTS

A. J. ANTCLIFF. — Inheritance of sex in <i>Vitis</i>	113
H. THIELLEMENT. — Cytoplasmic male-sterility in <i>Vicia faba</i> L. V. — Intermediate phenotypes	123
G. BRANLARD, M. ROUSSET. — Electrophoretal characteristics of gliadins and baking value or bread wheat	133
A. SEGALA, Martine SEGALA and G. PIQUEMAL. — Research for improving natural selfing in sunflower cultivars (<i>Helianthus annuus</i> L.). I. — Natural selfing and self compatibility	151
A. SEGALA, Martine SEGALA, G. PIQUEMAL. — Research for improving natural selfing in sunflowers cultivars (<i>Helianthus annuus</i> L.). II. — Some characters allowing the pollen to reach easily the stigma papillae.	161
G. PIQUEMAL, J. C. MOURET. — Studies of genetical means of improving the fructification of sunflower (<i>Helianthus annuus</i> L.). Variation of the fructification rate according to the site of the floret and the orientation of the head	175
M. RENARD, Françoise DOSBA. — Haploidy in rape	191
Meeting of the I.N.R.A. study group « Cytology and Cytogenetics »	211

Les Annales d'Amélioration des Plantes figurent dans Current Contents